

**PENGARUH DOSIS PUPUK RUMEN SAPI YANG BERBEDA TERHADAP
PERTUMBUHAN, BIOMASSA dan KANDUNGAN PROTEIN *Chaetoceros*
*calcitrans***

SKRIPSI

Oleh :

**DEWI KURNIASARI
NIM. 145080501111037**



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

**PENGARUH DOSIS PUPUK RUMEN SAPI YANG BERBEDA TERHADAP
PERTUMBUHAN, BIOMASSA dan KANDUNGAN PROTEIN *Chaetoceros*
*calcitrans***

SKRIPSI

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan
di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya**

Oleh :

**DEWI KURNIASARI
NIM. 145080501111037**



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
JULI, 2018**

SKRIPSI

PENGARUH DOSIS PUPUK RUMEN SAPI YANG BERBEDA TERHADAP
PERTUMBUHAN, BIOMASSA dan KANDUNGAN PROTEIN *Chaetoceros*
calcitrans

Oleh :

DEWI KURNIASARI
NIM. 145080501111037

Telah dipertahankan di depan penguji
pada tanggal 6 Juli 2018
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,
Dosen Pembimbing I



Dr. Ir. Arni W. Ekawati, MS.
NIP. 19620805 198603 2 001

Tanggal: 11 6 JUL 2018

Dosen Pembimbing II



M. Fakhri, SPI., MP., MSc.
NIP. 19860717 201504 1 001

Tanggal: 11 6 JUL 2018

Mengetahui,

Ketua Jurusan
Manajemen Sumberdaya Perairan



Dr. Ir. M. Firdaus, MP.
NIP. 19660919 200501 1 001

Tanggal: 11 6 JUL 2018

LEMBAR IDENTITAS TIM PENGUJI

Judul : **PENGARUH DOSIS PUPUK RUMEN SAPI YANG BERBEDA TERHADAP PERTUMBUHAN, BIOMASSA DAN KANDUNGAN PROTEIN *Chaetoceros calcitrans***

Nama Mahasiswa : DEWI KURNIASARI

NIM : 145080501111037

Program Studi : Budidaya Perairan

PENGUJI PEMBIMBING:

Pembimbing 1 : Dr. Ir. ARNING WILUJENG EKAWATI, MS.

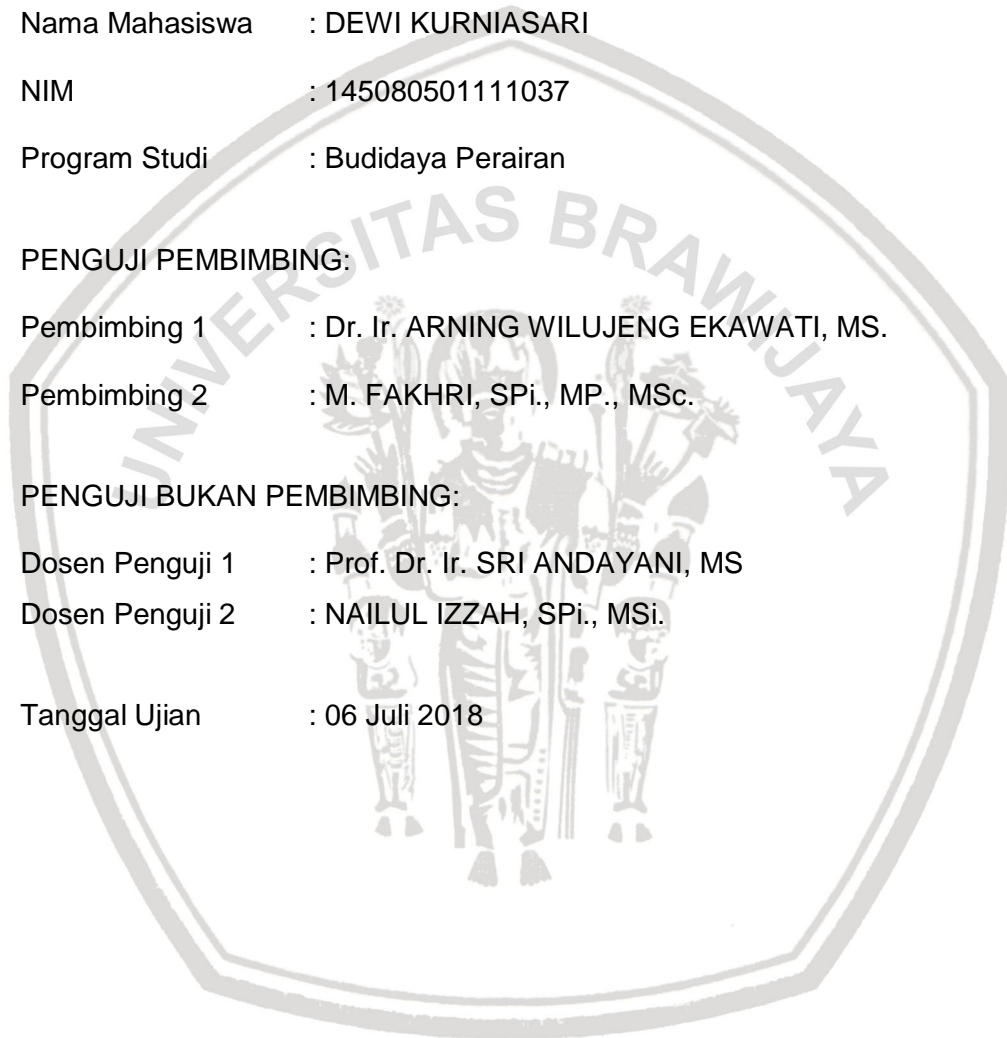
Pembimbing 2 : M. FAKHRI, SPi., MP., MSc.

PENGUJI BUKAN PEMBIMBING:

Dosen Penguji 1 : Prof. Dr. Ir. SRI ANDAYANI, MS

Dosen Penguji 2 : NAILUL IZZAH, SPi., MSi.

Tanggal Ujian : 06 Juli 2018



PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil penjiplakan (plagiasi), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut, sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.

Malang, Juli 2018

Mahasiswa

Dewi Kurniasari



RIWAYAT HIDUP



Dewi Kurniasari adalah nama penulis skripsi ini. Penulis lahir dari orang tua Pono dan Istuningsih sebagai anak kedua dari 2 bersaudara. Penulis dilahirkan di Magetan pada tanggal 28 Desember 1995. Penulis menempuh pendidikan dimulai dari SDN Sobontoro 1 lulus tahun 2008, melanjutkan ke SMPN 1

Karangrejo lulus tahun 2011 kemudian melanjutkan ke SMA Negeri 1 Karas lulus tahun 2014 dan melanjutkan kuliah di Universitas Brawijaya Malang hingga akhirnya bisa menempuh kuliah Strata 1 di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Program Studi Budidaya Perairan.

Dengan ketekunan, motivasi tinggi untuk terus belajar dan berusaha, penulis telah berhasil menyelesaikan pengerjaan skripsi ini. Semoga dengan penulisan skripsi ini mampu memberikan kontribusi positif bagi dunia pendidikan.

Akhir kata penulis mengucapkan rasa syukur yang sebesar-besarnya atas terselesaikannya skripsi yang berjudul **“Pengaruh Dosis Pupuk Rumen Sapi yang Berbeda terhadap Pertumbuhan, Biomassa dan Kandungan Protein *Chaetoceros calcitrans*”**

UCAPAN TERIMAKASIH

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT karena berkat bantuan-Nya, skripsi ini dapat selesai dengan baik dan tepat waktu. Selama penyusunan skripsi ini, penulis menerima banyak bantuan dari berbagai pihak sehingga penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Allah SWT karena atas limpahan rahmat dan berkah-Nya, Skripsi ini dapat terselesaikan.
2. Orang tua dan keluarga besar yang tak henti-hentinya memberikan dukungan, serta doa sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
3. Ibu Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS. selaku dosen pembimbing I yang selalu memberi nasehat dan bimbingan
4. Bapak M. Fakhri, SPi., MP., MSc. Selaku dosen pembimbing II yang membantu bimbingan dan memberikan saran serta semangat
5. Ibu Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS selaku dosen penguji I yang memberikan saran dan nasihat, sehingga skripsi ini dapat terselesaikan
6. Ibu Nailul Izzah, SPi., MSi selaku dosen penguji II yang memberikan saran dan nasihat, sehingga skripsi ini dapat terselesaikan
7. Seluruh kepala laboratorium dan laboran Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya.
8. Tim penelitian pupuk rumen yaitu Iklima, Alvin dan Arsa yang selalu ada saat melakukan penelitian serta memberi semangat selama penelitian.
9. Sahabat yang selalu memberikan semangat dan doa yaitu Husna Nabilla, Mia Surantika, Laily Putri, Ismail Wicaksono
10. Teman-teman dari Tim Dayat yang tidak bisa disebutkan semua, yang sudah membantu menyelesaikan penelitian, memberi pengarahan.
11. Teman-teman satu angkatan "Aquaforce 2014" yang memberikan semangat.

RINGKASAN

Dewi Kurniasari. Skripsi tentang Pengaruh Dosis Pupuk Rumen Sapi yang Berbeda terhadap Pertumbuhan, Biomassa dan Kandungan Protein *Chaetoceros calcitrans* (di bawah bimbingan **Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS.** dan **Muhammad Fakhri, SPi., MP., MSc.**)

Mikroalga menjadi salah satu mikroorganisme perairan yang potensial untuk dikembangkan, karena mikroalga memiliki banyak manfaat yang dapat digunakan untuk kepentingan manusia. Salah satu jenis mikroalga yaitu *Chaetoceros calcitrans* yang merupakan salah satu jenis fitoplankton yang memenuhi persyaratan sebagai pakan alami dalam budi daya perairan, misalnya *C. calcitrans* banyak digunakan sebagai pakan alami pada unit-unit pembenihan karena memiliki kandungan protein yang sangat tinggi, selain itu pada kondisi lingkungan yang cocok dapat berkembang dengan cepat.

Penelitian ini bertujuan untuk menjelaskan pengaruh perbedaan dosis pupuk yang berbeda terhadap pertumbuhan, produksi biomassa, dan kandungan protein *Chaetoceros calcitrans*. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Reproduksi Ikan, Laboratorium Parasit dan Kesehatan Ikan, serta Laboratorium Unit Pelaksana Teknis Perikanan Air Tawar Sumber Pasir Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang pada bulan Februari sampai dengan Mei 2018.

Penelitian menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 3 ulangan. Pupuk yang digunakan terdiri dari perlakuan (K) media dengan pupuk walne dosis 1mL/L, (A) media dengan pupuk rumen sapi dosis 20mL/L, (B) media dengan pupuk rumen sapi dosis 30mL/L, dan (C) media dengan pupuk rumen sapi dosis 40mL/L. Parameter utama yang diamati adalah pertumbuhan, biomassa, dan kandungan protein *Chaetoceros calcitrans*, sedangkan parameter penunjang adalah suhu, pH, DO (oksigen terlarut), salinitas, nitrat, dan fosfat.

Hasil penelitian didapatkan untuk perlakuan terbaik pada pupuk walne 1mL/L dengan hasil laju pertumbuhan sebesar 0,545/hari ($11,85 \times 10^6$ sel/mL) dengan biomassa 0,80 g/L, dan protein 10,87%. Penggunaan dosis terbaik pupuk rumen sapi untuk kultur *Chaetoceros calcitrans* yaitu 20mL/L dengan hasil laju pertumbuhan sebesar 0,516/hari ($3,55 \times 10^6$ sel/mL) dengan biomassa 0,53 g/L, dan protein 4,01%. Pengukuran parameter kualitas air didapatkan hasil yang optimal untuk pertumbuhan. Hasil nilai suhu berkisar 26–31 °C, pH berkisar 7,1–8,5, DO (oksigen terlarut) berkisar 6,1–7,7 ppm, salinitas berkisar 29–30 ppt, serapan nitrat perlakuan A sebesar 61,80% dan untuk serapan fosfat sebesar 51,12%.

Hasil penelitian disimpulkan bahwa perlakuan perbedaan dosis yang berbeda mempengaruhi pertumbuhan, biomassa dan kandungan protein *Chaetoceros calcitrans*. Data hasil penelitian menyarankan menggunakan perlakuan dosis pupuk dibawah 20mL/L untuk mengetahui laju pertumbuhan, biomassa dan protein yang terbaik serta dapat dilakukan penelitian lanjutan mengenai perlakuan dosis pupuk rumen sapi terhadap *C. calcitrans* dengan parameter yang diuji yaitu kandungan lipid dan β - Karoten.

KATA PENGANTAR

Skripsi dengan judul “Pengaruh Dosis Pupuk Rumen Sapi yang Berbeda terhadap Pertumbuhan, Biomassa dan Kandungan Protein *Chaetoceros calcitrans*” ini tersajikan untuk menjelaskan pengaruh perbedaan dosis pupuk rumen sapi terhadap pertumbuhan, biomassa dan kandungan protein *C. calcitrans* yang diteliti sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, dibawah bimbingan :

1. Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS.
2. M. Fakhri, SPi., MP., MSc.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan yang mendasar pada skripsi ini. Oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran dari pembaca yang dapat membangun. Kritik konstruktif dari pembaca sangat di harapkan untuk penyempurnaan laporan selanjutnya, agar tulisan ini dapat bermanfaat bagi kita semua. Demikian penulis sampaikan terimakasih.

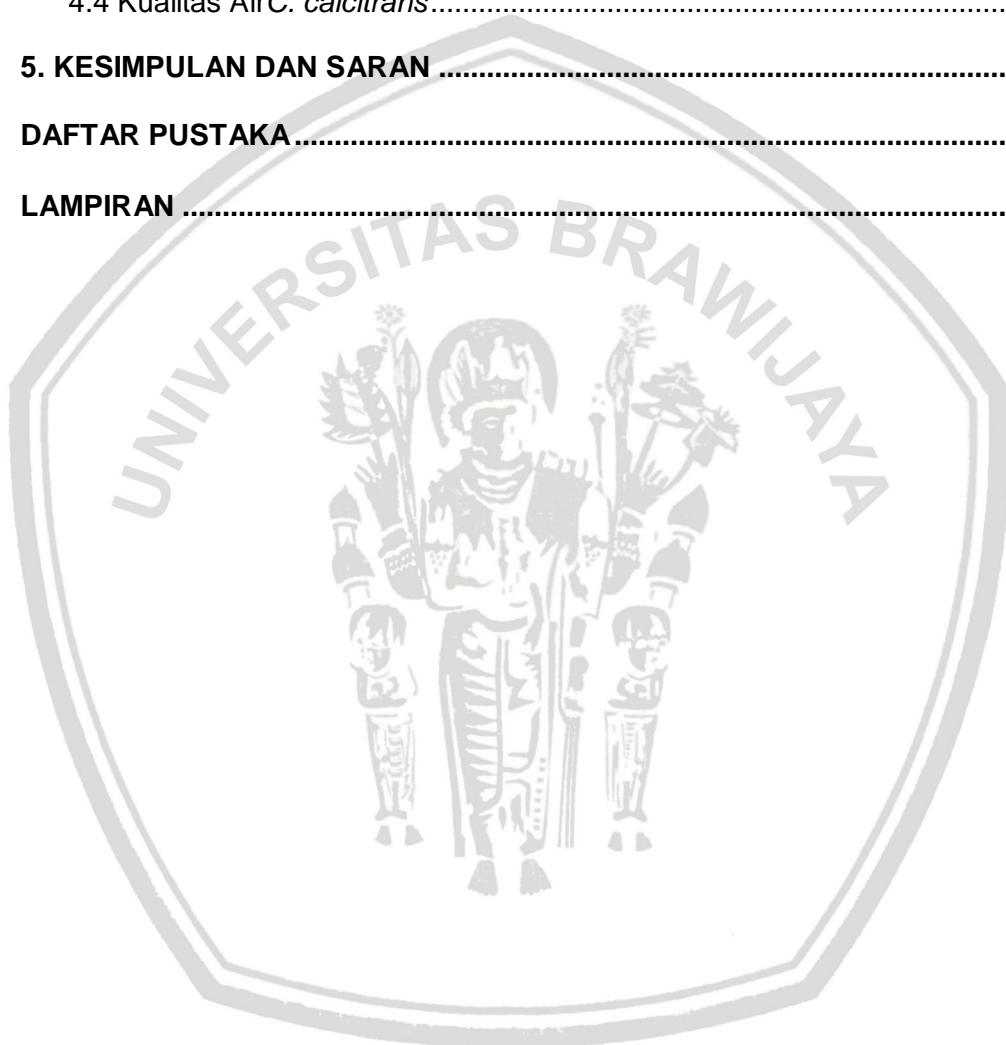
Malang, Juli 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Hipotesis.....	4
1.5 Kegunaan Penelitian	4
1.6 Tempat dan Waktu	4
2. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Biologi <i>Chaetoceros calcitrans</i>	5
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi <i>Chaetoceros calcitrans</i>	5
2.1.2 Reproduksi <i>Chaetoceros calcitrans</i>	6
2.2 Fase Pertumbuhan Mikroalga	6
2.2.1 Fase Adaptasi.....	7
2.2.2 Fase Eksponensial	7
2.2.3 Fase Tetap (Stasioner).....	8
2.2.4 Fase Kematian.....	8
2.3 Sistem Kultur.....	9
2.4 Faktor yang Mempengaruhi Mikroalga	9
2.4.1 Kondisi Lingkungan	9
2.4.2 Nutrien.....	11
2.5 Kandungan <i>Chaetoceros calcitrans</i>	12
2.6 Rumen Sapi.....	13
2.7 Fermentasi Rumen Sapi	14
2.8 Pengaruh Rumen Sapi terhadap Mikroalga	15
2.9 Pengaruh Nitrat dan Fosfat terhadap Pertumbuhan Mikroalga	17
3. MATERI DAN METODE PENELITIAN	18
3.1 Alat dan Bahan Penelitian.....	18
3.1.1 Alat Penelitian	18
3.1.2 Bahan Penelitian.....	18
3.2 Media Penelitian.....	19
3.3 Metode Penelitian	19
3.4 Rancangan Percobaan Penelitian	19
3.5 Prosedur Penelitian.....	21

3.5.1	Persiapan Penelitian	21
3.5.2	Pelaksanaan Penelitian	23
3.6	Parameter Uji	25
3.6.1	Parameter Utama.....	25
3.6.2	Parameter Penunjang.....	28
3.7	Analisis Data	29
4.	HASIL DAN PEMBAHASAN	30
4.1	Pertumbuhan <i>C. calcitrans</i>	30
4.2	Biomassa <i>C. calcitrans</i>	36
4.3	Protein <i>C. calcitrans</i>	37
4.4	Kualitas Air <i>C. calcitrans</i>	39
5.	KESIMPULAN DAN SARAN	42
	DAFTAR PUSTAKA	43
	LAMPIRAN	50



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Karakteristik Endapan Rumen Sapi.....	13
2. Rata-rata Parameter Utama <i>C. calcitrans</i> Selama Penelitian	30



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>Chaetoceros calcitrans</i> Perbesaran 200x (Takano, 1968).....	5
2. Fase Pertumbuhan Mikroalga (Creswell, 2010)	7
3. Denah Penelitian Rancangan Acak Lengkap	21
4. Pertumbuhan <i>C. calcitrans</i>	30
5. Hubungan Perbedaan Dosis Pupuk Rumen Sapi terhadap Laju Pertumbuhan Spesifik <i>C. calcitrans</i>	32
6. Nilai Serapan Nitrat <i>C. calcitrans</i> Selama Penelitian	34
7. Nilai Serapan Fosfat <i>C. calcitrans</i> Selama Penelitian	34
8. Hubungan Perbedaan Dosis Pupuk Rumen terhadap Biomassa <i>C. calcitrans</i>	36
9. Hubungan Perbedaan Dosis Pupuk Rumen terhadap Protein <i>C. calcitrans</i>	38

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alur Fermentasi Rumen Sapi.....	50
2. Pembuatan Media / Pupuk Rumen Sapi yang sudah di Fermentasi	51
3. Proses Sterilisasi.....	52
4. Kandungan Rumen Sapi	54
5. Komposisi Pupuk Walne (FAO, 1991)	55
6. Perhitungan Pengenceran	56
7. Data Pertumbuhan <i>C. calcitrans</i> ($\times 10^4$) (sel/mL)	57
8. Data Hasil Pertumbuhan Spesifik (μ).....	58
9. Data Perhitungan <i>Doubling time</i> <i>C. calcitrans</i>	59
10. Sidik Ragam Laju Pertumbuhan Spesifik <i>C. calcitrans</i>	60
11. Data Pengamatan Nitrat dan Nilai Serapannya.....	63
12. Data Pengamatan Fosfat dan Nilai Serapannya	65
13. Sidik Ragam Biomassa <i>C. calcitrans</i>	67
14. Sidik Ragam protein <i>C. calcitrans</i>	70
15. Data Pengukuran Kualitas Air	73
16. Konsentrasi Larutan Standar <i>Bovine Serum Albumin</i> (BSA)	76
17. Dokumentasi Penelitian	77

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Mikroalga merupakan produsen primer pada perairan. Mikroalga termasuk sumber makanan bagi organisme akuatik dan digunakan sebagai pakan alami pada pembenihan (Raghavan, *et al.*, 2008). Mikroalga menjadi salah satu mikroorganisme perairan yang potensial untuk dikembangkan, karena mikroalga memiliki banyak manfaat yang dapat digunakan untuk kepentingan manusia, antara lain sebagai bahan makanan, pakan ternak, obat-obatan, dan campuran pupuk (Chisti, 2007).

Mikroalga banyak digunakan sebagai pakan bagi larva ikan maupun udang. Dalam mengantisipasi kebutuhan benih, dibutuhkan pengembangan kultur mikroalga yang baik dan secara berkesinambungan (Ismi, *et al.*, 2012). Salah satu mikroalga yang mudah dikultur sebagai pakan alami yaitu *Chaetoceros calcitrans*. *C. calcitrans* merupakan salah satu alga kuning kecoklatan yang mempunyai kandungan nutrisi yang tinggi (Chisti, 2007). Kandungan nutrisi dari *Chaetoceros* sp. yaitu protein 35%, lemak 6,9%, karbohidrat 6,6% dan kadar abu 28% (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995).

Penggunaan pupuk dalam media kultur *C. calcitrans* sangat penting untuk mendapatkan produktivitas kultur yang tinggi serta kualitas biomassa yang baik. *C. calcitrans* dapat memanfaatkan zat hara lebih cepat dari diatom lainnya dalam penyerapan nutrisi (Trikti, *et al.*, 2016). Dalam mengkultur *C. calcitrans* pertumbuhan sangat dipengaruhi oleh nutrisi yang ada di lingkungan tempat hidupnya. Jenis pupuk yang banyak dimanfaatkan adalah jenis pupuk PA (*Pro Analis*) seperti Walne dan *Guillard*, tetapi pupuk jenis ini cukup mahal (Amanatin dan Nurhidayati, 2013). Oleh karena itu, diperlukan pupuk untuk media

kultur dalam menunjang ketersediaan unsur hara baik makro maupun mikro yang harganya lebih ekonomis, salah satunya yaitu menggunakan pupuk rumen sapi.

Rumen adalah salah satu bagian lambung ternak ruminansia (memamah biak) seperti sapi, kerbau dan kambing. Rumen berisi bahan pakan yang dimakan oleh ternak yang berupa rumput/hijauan lainnya dan pakan penguat (konsentrat). Pada tahun 2012, Indonesia memiliki limbah rumen sapi mencapai 240 juta/liter (Marjuki dan Wahyuni, 2012). Kandungan rumen sapi menurut Rasyid (1981), meliputi protein 8,86%, lemak 2,60%, serat kasar 28,78%, kalsium 0,53%, fosfor 0,55%, BETN (Bahan Ekstrak Tanpa Nitrogen) 41,24%, abu 18,54%, dan air 10,92%. Rumen sapi memiliki konsentrasi ammonia (NH_3) yang diperlukan untuk laju sintesis protein mikroba berkisar 3 – 8 mg/100mL cairan rumen (Nuswantara, *et al.*, 2006), kandungan TOC (Total Organik Carbon) rumen sebelum difermentasi sebesar 6,33% (padatan rumen) dan 6,02% (cairan rumen) sedangkan N organik sesudah fermentasi sebesar 0,73% (Rizki dan Wiharyanto, 2015). Kelebihan rumen sapi yaitu memiliki kandungan abu tinggi, hal itu mencerminkan beberapa kandungan mineral yang tinggi juga seperti mineral Na, K, P, dan Fe. Sehingga hal itu sangat baik untuk kebutuhan nutrisi *C. calcitrans*. Selain memiliki kelebihan, rumen sapi juga memiliki kekurangan yaitu bahan organik tinggi dan pH yang sangat tinggi juga, berkisar 10 (Resmi, *et al.*, 2011). Maka dari itu untuk menurunkan pH dan bahan organik yang tinggi dilakukan proses fermentasi. Dalam proses fermentasi rumen sapi yaitu menggunakan bakteri *Bacillus subtilis*, karena bakteri ini memiliki enzim selulase dan selulase yang dapat mendegradasi serat kasar rumen sapi sehingga dapat memecah bahan organik menjadi bahan anorganik (Yusufa, 2014).

Beberapa penelitian telah dilakukan menggunakan pupuk rumen sapi salah satunya penelitian Masithah, *et al.* (2012), yaitu tentang pengaruh pemberian bakteri *Bacillus pumilus* pada rumen sapi sebagai pupuk terhadap pertumbuhan

Dunaliella salina. Dari hasil fermentasi rumen dengan pemberian bakteri *B. pumilus* dosis 10% memiliki pengaruh yang signifikan dibanding yang lainnya. Dosis pupuk rumen yang digunakan untuk kultur *D. salina* sebesar 1 mL/L dan mendapatkan kepadatan tertinggi sebanyak 875.000 sel/mL pada hari ketiga. Hasil pemberian pupuk rumen sapi juga berpengaruh terhadap kadar N dan P pada perairan. Terdapat kenaikan kadar N pada pemberian cairan rumen. Akan tetapi untuk kadar P berkurang sedikit. Berdasarkan penjelasan tersebut perlu dilakukan penelitian tentang pemanfaatan rumen sapi sebagai pupuk untuk kultur mikroalga *C. calcitrans* dalam menunjang pertumbuhan, biomassa dan kandungan protein.

1.2 Perumusan Masalah

Mikroalga *C. calcitrans* memiliki potensi besar sebagai sumber protein. Berdasarkan hal tersebut penelitian mengenai media pertumbuhan yang tepat serta dapat menghasilkan pertumbuhan, biomassa dan protein yang maksimal perlu dilakukan. Banyak sekali jenis pupuk yang biasa digunakan untuk nutrisi, tetapi harganya cukup mahal. Alternatif lain yaitu menggunakan pupuk rumen sapi yang kandungan proteinnya cukup tinggi sehingga cocok sebagai nutrisi untuk mikroalga. Adapun rumusan masalah dari penelitian ini yaitu :

- Apakah perbedaan dosis pupuk rumen sapi berpengaruh terhadap pertumbuhan, biomassa dan kandungan protein *C. calcitrans*?
- Berapa dosis terbaik pupuk rumen sapi terhadap pertumbuhan, biomassa dan kandungan protein *C. calcitrans*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini yaitu:

- Untuk mengetahui pengaruh perbedaan dosis pupuk rumen sapi terhadap pertumbuhan, biomassa dan kandungan protein pada *C. calcitrans*.

- Untuk menentukan dosis terbaik pemberian pupuk rumen sapi terhadap pertumbuhan, biomassa dan kandungan protein pada *C. calcitrans*.

1.4 Hipotesis

Berdasarkan rumusan masalah tersebut diperoleh hipotesis sebagai berikut:

H0 = Penggunaan dosis pupuk rumen sapi yang berbeda tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan, biomassa dan kandungan protein *C. calcitrans*.

H1 = Penggunaan dosis pupuk rumen sapi yang berbeda berpengaruh terhadap pertumbuhan, biomassa dan kandungan protein *C. calcitrans*.

1.5 Kegunaan

Manfaat penelitian ini adalah sebagai terobosan baru dalam kultur pakan alami khususnya *C. calcitrans* dengan menggunakan pupuk rumen sapi dapat diaplikasikan oleh pembudidaya ikan/udang serta nutrisi nya dapat terpenuhi dari pakan alami tersebut. Serta memberi informasi dosis yang digunakan dan pengaruhnya terhadap pertumbuhan, biomassa dan kandungan protein *C. calcitrans*.

1.6 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari – Mei 2018 yang bertempat di Laboratorium Reproduksi Ikan, Laboratorium Budidaya Ikan Divisi Penyakit dan Kesehatan Ikan, dan Laboratorium Unit Pelaksana Teknis Perikanan Air Tawar Sumber Pasir Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang.

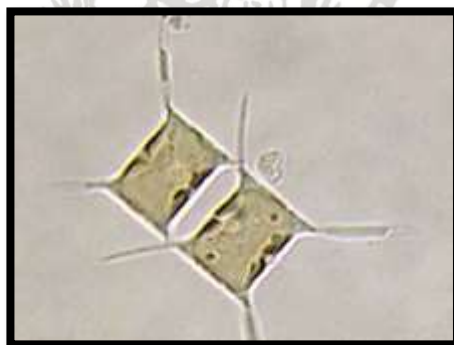
2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biologi *Chaetoceros calcitrans*

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi *Chaetoceros calcitrans*

Menurut Bold dan Wynne (1985), klasifikasi *C. calcitrans* adalah sebagai berikut, sedangkan gambar dari *C. calcitrans* dapat dilihat pada Gambar 1.

Kingdom	: Chromista
Filum	: Bacillariophyta
Kelas	: Bacillariophyceae
Ordo	: Chaetocerotales
Famili	: Chaetoceraceae
Genus	: Chaetoceros
Spesies	: <i>Chaetoceros calcitrans</i>



Gambar 1. *Chaetoceros calcitrans* Perbesaran 200x (Takano, 1968).

Diatom merupakan alga uniseluler dari kelas *Bacillariophyceae*. Bentuk diatom dari spesies *C. calcitrans* dapat dilihat pada Gambar 1. Kelas ini mendominasi jumlah fitoplankton di laut dan sering ditemukan dalam perairan tawar dan payau. Kelas *Bacillariophyceae* memiliki klorofil a, c, dan *fucoxanthin* sehingga warna tubuhnya terlihat coklat keemasan (Armanda, 2013). Terdapat beberapa spesies *Chaetoceros*, antara lain: *C. calcitrans*, *C. gracillis*, *C. muelleri*, *C. simplex*, dan *C. danicum*. *Chaetoceros calcitrans* memiliki bentuk sel bulat dengan ukuran sel yang sangat kecil yakni berkisar antara 4 – 6 mikro

sama seperti diatom pada umumnya (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995). Mikroalga jenis ini mudah dikenali karena berbeda dengan fitoplankton yang lain. Perbedaan terletak pada dinding sel diatom yang terbuat dari silika. Kegunaan silika adalah menyimpan karbon dalam bentuk polimer dari karbohidrat yang dikenal sebagai *chrysolaminarin* (Krichnavaruk, *et al.*, 2005).

2.1.2 Reproduksi *Chaetoceros calcitrans*

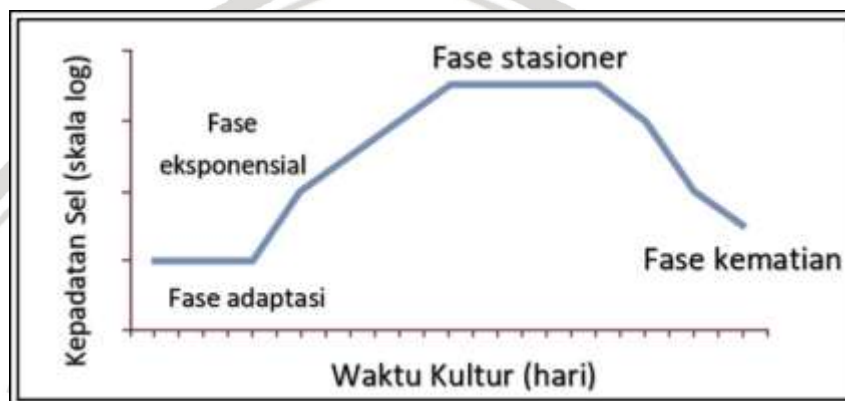
Menurut Nontji (2008), reproduksi diatom dapat terjadi secara seksual maupun aseksual. Reproduksi aseksual (*vegetatif*) yang sangat umum dilakukan oleh beberapa spesies termasuk kelompok diatom. Reproduksi aseksual diatom melalui pembelahan sitoplasma dalam frustula. Dimulai dari epiteka induk yang dapat didaur ulang beberapa kali yang memiliki rentang hidup. Epiteka induk akan menghasilkan hipoteka baru. Kemudian hipoteka lama akan membentuk epiteka baru yang menghasilkan anakan baru hingga seterusnya. Suksesi reproduksi aseksual ini akan menghasilkan ukuran sel yang semakin kecil.

Centric diatom merupakan oogami yang memproduksi satu dari dua sel telur induk dan dari 4 – 128 sperma dihasilkan oleh induk sebagai hasil dari pembelahan mitosis yang diikuti meiosis. Sperma yang dihasilkan oleh *centric diatom* memiliki flagel. Katup yang mengelilingi sperma akan terpisah yang akan membuat sel lepas. Dinding dari silika yang mengelilingi telur akan membuka. Hasil pembelahan gamet dalam pembentukan *zigot* akan berkembang menjadi auksospora besar. Auksospora ini akan lepas dari induknya. Auksospora matang akan memproduksi dua bagian dinding silika. Salah satu frustula akan terpisah pada proses pembelahan mitosis (Graham dan Wilcox, 2000).

2.2 Fase Pertumbuhan Mikroalga

Menurut Creswell (2010), grafik pertumbuhan mikroalga dapat dilihat pada Gambar 2. Terdapat 4 fase selama masa kultivasi mikroalga. Fase pertama

adalah fase lag atau fase adaptasi. Pada fase adaptasi diatom belum menunjukkan pertumbuhan yang nyata. Fase kedua adalah fase eksponensial dimana jumlah kepadatan mikroalga mulai meningkat. Pada fase ketiga adalah fase stationer dengan jumlah kepadatan mikroalga yang konstan. Kemudian, fase keempat adalah fase menuju kematian mikroalga dimana kepadatan mikroalga mulai berkurang. Pada fase menuju kematian pertumbuhan mikroalga cenderung melambat.



Gambar 2. Fase Pertumbuhan Mikroalga (Creswell, 2010)

2.2.1 Fase Adaptasi

Fase lag merupakan periode penyesuaian fisiologis terhadap perubahan nutrisi atau media kultur (Lee, *et al.*, 2013). Menurut Prihantini, *et al.* (2007), menyatakan sel yang baru diinokulasikan ke dalam media baru mula – mula akan melakukan perubahan pada kimiawi dan fisiologis selnya. Hal ini dilakukan untuk menyesuaikan kembali aktivitas metabolisme sel agar dapat tumbuh pada media baru. Menurut Safitri, *et al.* (2013), fase adaptasi *C. calcitrans* terjadi pada hari ke – 0 yang ditandai dengan tidak adanya penambahan jumlah sel.

2.2.2 Fase Eksponensial

Setelah hari pertama, terjadi kenaikan jumlah sel *C. calcitrans* yang berlangsung hingga hari ke – 7. Fase ini disebut sebagai fase eksponensial yang ditandai dengan penambahan jumlah sel yang cukup drastis melalui pembelahan sel dan nantinya akan membentuk fungsi logaritmik. Sebaiknya pada fase ini

mikroalga dipanen karena struktur sel masih normal kandungan nutrisinya akibat keseimbangan nutrisi dalam media kultur dan kandungan nutrisi dalam sel mikroalga (Putri, *et al.*, 2009). Laju pertumbuhan pada fase eksponensial ini mencapai maksimal karena pada fase ini sel melakukan konsumsi nutrisi dengan baik. Menurut Safitri, *et al.* (2013), fase eksponensial *C. calcitrans* terjadi pada hari ke- 1 hingga hari ke- 5. Fase ini ditandai dengan peningkatan sel secara terus-menerus akibat dari kondisi lingkungan yang optimum.

2.2.3 Fase Tetap (Fase Stasioner)

Fase tetap atau fase stasioner yaitu pembelahan sel dan kematian pada sel terjadi keseimbangan. Fase ini terjadi karena ketersediaan nutrisi dalam media sudah hampir habis sehingga tidak cukup untuk pembelahan dan pertumbuhan sel yang ditunjukkan dengan jumlah sel yang konstan (Prihantini, *et al.*, 2005). Kemudian, setelah substrat larut dalam media habis, kultur berada pada fase diam. Pada fase ini fotosintesis masih dilakukan dan penyimpanan produk karbon seperti pati dan lipid akan diakumulasi. Pada fase ini juga berlangsung sangat singkat dalam percobaan yang sudah dilakukan (Lee, *et al.*, 2013).

2.2.4 Fase Kematian

Setelah fase stasioner, kepadatan sel alga akan mengalami penurunan yang merupakan penanda bahwa alga telah memasuki fase kematian. Penurunan kepadatan sel ditunjukkan dengan kandungan nutrisi dalam media yang masih ada untuk mendukung pertumbuhan sel namun tidak dalam jumlah banyak. Faktor lainnya adalah karena intensitas cahaya yang semakin berkurang akibat populasi sel yang semakin padat (Prihantini, *et al.*, 2005). Fase kematian *C. calcitrans* terjadi di hari ke – 6 hingga ke – 7. Fase ini terjadi karena kondisi lingkungan, unsur hara dan kecepatan pertumbuhan sel semakin berkurang. Kematian sel diakibatkan oleh jumlah populasi yang semakin meningkat sehingga menyebabkan jumlah nutrisi atau unsur hara dalam media menjadi

terbatas. Adapun disebabkan karena keterbatasan ruang gerak akibat kompetisi antar sel dalam mendapatkan makanan (Safitri, *et al.*, 2013).

2.3 Sistem Kultur

Menurut Lavens dan Patrick (1996), ada tiga jenis sistem kultur mikroalga, pertama adalah *system batch culture* yang merupakan sistem dengan panen yang dilakukan apabila populasi mikroalga mencapai maksimum. Sistem ini sangat fleksibel dan sederhana sehingga mudah untuk diterapkan. Sistem kultur alga yang kedua adalah *system semi continue* yaitu sistem dengan panen yang dilakukan secara periodik parsial. Mikroalga dengan sistem ini tidak dipanen secara menyeluruh, sehingga menghasilkan mikroalga yang banyak. Sistem yang terakhir adalah *system continues*, pada sistem ini nutrisi diberikan secara terus menerus sehingga pertumbuhan akan mencapai tingkat maksimum.

Menurut Suminto (2005), metode *batch culture* merupakan metode yang diterapkan pada kultur sistem skala kecil yang berkelanjutan. Pemanenan kultur skala *batch culture* dilakukan dengan segera serta air kultur dibuang, wadah yang digunakan disterilisasi dan diisi kembali dengan mikroalga. Metode *batch culture* memiliki keuntungan dibandingkan dengan metode lain, antara lain, produksinya dapat diperkirakan, kemungkinan terjadinya kontaminasi lebih kecil dari metode yang lain dan lebih mudah menjaga pertumbuhan populasi.

2.4 Faktor yang Mempengaruhi Mikroalga

2.4.1 Kondisi Lingkungan

a. Intensitas Cahaya

Cahaya sangat dibutuhkan oleh mikroalga bagi proses fotosintesis. Namun intensitas cahaya yang diperlukan tiap-tiap alga untuk tumbuh secara maksimum berbeda-beda. Diatom akan mendominasi perairan pada saat intensitas cahaya tinggi dan suhu rendah. Laju pertumbuhan *Chaetoceros gracilis* meningkat pada

intensitas cahaya 500 – 10.000 lux (Kawaroe, *et al.*, 2010). Fitoplankton adalah organisme yang bersifat autotrof yang dapat mampu mengubah senyawa anorganik menjadi senyawa organik melalui fotosintesis. Faktor cahaya diperlukan untuk mendapatkan energi saat melakukan fotosintesis. Menurut Jati, *et al.* (2012), intensitas cahaya pada media kultur teknis *Guillard* maupun Walne yang diukur dengan lux *meter* adalah 2.500 – 4.000 lux.

b. Suhu

Suhu memberikan pengaruh terhadap proses biokimia dalam sel alga. Jika turun dibawah suhu optimal akan meningkatkan tingkat kejenuhan lemak dalam membran sel. Suhu optimal untuk pertumbuhan terlihat pada alga yang memiliki sel kecil, kandungan N dan C dalam sel, dimana suhu pula dapat meningkatkan volume sel dan kandungan biokimia pada alga (Hu, 2013). Jika suhu naik, menyebabkan peningkatan dekomposisi bahan organik oleh mikroba. Menurut Indarmawan, *et al.* (2012), suhu optimal untuk kultur mikroalga *Chaetoceros* sp. adalah sekitar 28 – 36°C. Menurut Banerjee, *et al.* (2011), suhu yang baik untuk *C. calcitrans* adalah 25 - 36 °C.

c. Salinitas

Menurut Kawaroe, *et al.* (2010), salinitas air adalah salah satu faktor yang berpengaruh terhadap organisme air dalam mempertahankan tekanan osmotik yang baik antara protoplasma organisme dengan air sebagai lingkungan hidupnya. Kisaran salinitas yang didapatkan pada kultur *C. gracillis* dengan pemberian pupuk Walne sebesar 26 – 30 ppt (Jati, *et al.*, 2012). Pada penelitian Indarmawan, *et al.* (2012), kisaran salinitas yang didapatkan selama penelitian adalah 17 – 27 ppt.

d. Oksigen Terlarut (DO)

Oksigen terlarut atau *dissolved oxygen* merupakan salah satu unsur penting pada proses metabolisme tumbuhan dan hewan air (Prasetyaningtyas, *et al.*, 2012). Dekomposisi bahan organik dan oksidasi bahan anorganik dapat menurunkan kadar oksigen terlarut hingga mencapai nol (0) atau kondisi anaerob (Giovanardi dan Vollenweider, 2004). Selain itu, faktor lainnya tergantung pada pencampuran (*mixing*) dan pergerakan (*turbulence*) massa air, fotosintesis dan respirasi (Irawati, 2014). Kisaran oksigen terlarut pada penelitian Jati, *et al.*, (2012) menggunakan *C.gracillis* dengan media walne adalah 2,6 – 3,22 ppm.

e. pH

pH (*Power of Hydrogen*) merupakan salah satu unsur penting lainnya selain suhu, salinitas, intensitas cahaya dan oksigen terlarut. pH berperan dalam menyerap nutrisi termasuk nitrat dan fosfat (Singh, *et al.*, 2015). Kisaran pH untuk mikroalga *Chaetoceros* sp. akan tumbuh maksimal pada pH 7 – 9 (Indarmawan, *et al.*, 2012). Peningkatan pH dipengaruhi oleh proses fotosintesis yang merupakan proses penyerapan karbondioksida yang terlarut di dalam air. Rata-rata pH untuk kultivasi sebagian besar spesies mikroalga antara 7 – 9 dengan optimum rata-rata pH berkisar 8,2 – 8,7 (Kawaroe, *et al.*, 2010).

2.4.2 Nutrien

a. Makronutrien

Nutrien anorganik yang tergolong makronutrien adalah K, P, Ca, Mg, dan Na yang dibutuhkan alga sebagai bahan untuk penyusun sel (Prihantini, *et al.*, 2007). Elemen-elemen makro yang dibutuhkan sebagai media pertumbuhan alga dalam suatu lingkungan seperti C, N, P, dan Si serta beberapa ion penting seperti Na^+ , K^+ , Mg_2^+ , Ca_2^+ , Cl^- dan SO_4^{2-} (Mulyanto, 2010). Diantara nutrisi tersebut, N dan P sering menjadi faktor pembatas pertumbuhan mikroalga, ketika peningkatan jumlah populasi kultur akan diikuti oleh penurunan konsentrasi nitrat dalam kultur (Suantika, *et al.*, 2009). Dalam kultivasi mikroalga ada penambahan

nutrien yaitu nitrat, fosfat dan silikat untuk memenuhi nutrien (Lavens dan Sorgeloos, 1996). Menurut Krichnavaruk, *et al.* (2005), unsur P jika kandungannya berlebihan ataupun kurang, hal itu dapat menghambat pertumbuhan alga. Unsur Si, P dan N yang dibutuhkan *C. calcitrans*, yaitu Si sebesar 3,2 ppm, P 2,4 ppm dan N 14 ppm. Menurut Kawaroe, *et al.* (2010), sebagai diatom, *Chaetoceros calcitrans* memiliki dinding sel berupa silika dengan ciri – ciri dinding yang lebih tebal dan memiliki komposisi yang sangat berbeda dari alga lainnya.

b. Mikronutrien

Mikronutrien seperti Fe, Zn, Mn, dan Cu dibutuhkan oleh alga sebagai ko-faktor enzim maupun sebagai pembentuk pada klorofil (Prihantini, *et al.*, 2007). Selain elemen makro tersebut, dibutuhkan pula elemen-elemen mikro untuk menunjang kehidupan pada alga yaitu seperti Fe, Mn, Zn, Co, Cu, Mo dan Se. Dimana semua unsur ini dibutuhkan dalam jumlah yang sangat sedikit. Bila jumlahnya berlebihan, maka hal itu dapat mengganggu keseimbangan dalam sel bahkan dapat menghambat pertumbuhannya (Mulyanto, 2010). Menurut Kawaroe, *et al.* (2010), salah satu unsur mikro paling penting yang dibutuhkan oleh mikroalga dalam pertumbuhannya yaitu unsur Si.

2.5 Kandungan *Chaetoceros calcitrans*

Menurut Sasmita, *et al.* (2012), *Chaetoceros calcitrans* merupakan salah satu jenis diatom berupa pakan alami yang dapat memenuhi kebutuhan nutrisi larva udang. Mikroalga ini memiliki potensi besar sebagai sumber protein yang tinggi. Protein merupakan kebutuhan paling penting dalam makanan, karena protein merupakan sumber energi. Pada *C. calcitrans* juga mengandung asam amino esensial.

Menurut Trikuti, *et al.* (2016), *C. calcitrans* merupakan contoh alga kuning yang mempunyai kandungan nutrisi yang tinggi. Kandungan nutrisi dari *Chaetoceros* sp. yaitu protein 35%, lemak 6,9%, karbohidrat 6,6% dan kadar abu 28%. Mikroalga *Chaetoceros* sp. memiliki potensi besar sebagai sumber protein. Menurut Isnansetyo dan Kurniastuty (1995), *C. calcitrans* memiliki kandungan nutrisi yang tinggi yaitu protein 35%, lemak 6,9%, karbohidrat 6,6% dan kadar abu 28%. Menurut Ompi (2016), *C. calcitrans* memiliki protein 0,58 (Wi), lipid 0,15 (Wi) dan karbohidrat 0,12 (Wi).

2.6 Rumen Sapi

Rumah Potong Hewan (RPH) selain menghasilkan daging juga menghasilkan produk samping yang dapat dimanfaatkan. Isi rumen sapi adalah salah satu limbah yang diperoleh dari rumah potong hewan yang kaya akan nutrisi. Limbah ini sebenarnya sangat potensial bila dimanfaatkan sebagai pupuk karena isi rumen memiliki nutrisi tinggi. Isi rumen dan kotoran sapi masih mengandung bahan organik tinggi (Manendar, 2010). Rumah Pemotongan Hewan (RPH) di kota Batu melakukan pemotongan setiap harinya cukup banyak. Limbah hasil pemotongan hewan tersebut belum dimanfaatkan dan hanya dibuang ke perairan yang dapat mencemari lingkungan sekitar. Pengolahan limbah isi rumen dan kotoran sapi dapat dilakukan dengan cara fermentasi *anaerob* (tanpa kehadiran oksigen), merupakan salah satu alternatif untuk mengurangi pencemaran lingkungan. Pada proses tersebut bahan organik akan didegradasi oleh mikroba dan dapat menghasilkan biogas. Pada ternak ruminansia terdapat empat jenis mikroba yang menguntungkan yaitu bakteri, protozoa, jamur (fungi), dan virus pada kondisi ternak yang sehat. Dari keempat jenis mikroba tersebut, bakteri mempunyai jenis dan populasi tertinggi (Ogimoto dan Imai, 1980).

Karakteristik endapan rumen sapi menurut Resmi, *et al.* (2011), disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik Endapan Rumen Sapi

No	Karakteristik Endapan Rumen Sapi	Nilai
1	pH	$10,03 \pm 0,04$
2	Kelarutan bahan kering (%)	$39,11 \pm 0,28$
3	Berat jenis (gram/cc)	$1,54 \pm 0,06$
4	Kerapatan tumpukan (ton/ m ³)	$0,60 \pm 0,01$
5	Kerapatan pemadatan (ton/ m ³)	$0,65 \pm 0,02$
6	Sudut tumpukan (derajat)	$25,71 \pm 1,18$

Mikroba rumen memiliki sifat saling ketergantungan dan berintegrasi satu sama lainnya. Interaksi mikroba memberikan kestabilan dan adaptasi yang baik dalam rumen. Protein mikroba rumen merupakan biomassa sumber utama nitrogen untuk ternak. Peningkatan protein mikroba dipengaruhi oleh faktor lingkungan yang beragam dan faktor populasi bakteri (Brooker, *et al.*, 1993).

2.7 Fermentasi Rumen Sapi

Fermentasi merupakan suatu proses reaksi kimia yang membebaskan energi senyawa organik yang disebabkan oleh aktivitas mikroorganisme. Proses fermentasi berlangsung dikarenakan adanya perombakan dari bahan organik menjadi bahan anorganik pada kondisi tertentu yang dilakukan oleh mikroorganisme fermentatif (Santi, 2008). Menurut Fardiaz (1988), pada bahan yang mengalami fermentasi memiliki kualitas yang jauh lebih baik dibandingkan dengan bahan sebelum difermentasi.

Pengolahan limbah isi rumen pada hewan ternak sapi yaitu dapat dilakukan dengan cara fermentasi anaerob (tanpa kehadiran oksigen). Fermentasi anaerob

merupakan salah satu cara alternatif untuk mengurangi pencemaran lingkungan. Pada proses tersebut bahan organik akan didegradasi oleh mikroba yang ada pada bakteri fermentasi. Isi rumen sapi memiliki kandungan nutrisi cukup tinggi karena belum terserap oleh usus halus sehingga nutrisinya tidak berbeda dengan bahan bakunya, bahkan rumen sapi memiliki kandungan asam amino esensial dari protein mikroba. Akan tetapi rumen sapi memiliki pH yang sangat tinggi berkisar 10. Maka dari itu, perlu dilakukan fermentasi dengan cara penambahan bakteri *Bacillus subtilis* sebagai fermentor sehingga dapat meningkatkan kandungan nutrisi pada rumen sapi (Ihsan, *et al.*, 2013).

Menurut Haetami, *et al.* (2008), menyatakan bahwa bakteri *Bacillus* sp. dapat lebih efektif bekerja dalam merombak substrat dan dapat menurunkan kandungan serat kasar, peningkatan kandungan lemak dan peningkatan kalsium. *Bacillus* sp. mampu menghasilkan protease dalam jumlah tinggi. Protease merupakan enzim proteolitik yang mampu mengkatalis pemutusan ikatan peptide pada protein. Mikroba jenis *Bacillus* tidak menghasilkan toksin atau racun dan bakteri sangat mudah ditumbuhkan. *Bacillus subtilis* secara spesifik memiliki kemampuan dalam mendegradasi bahan organik yang ditunjukkan dengan kemampuan dalam mendegradasi BOD (*Biochemical Oxygen Demand*). Prinsip kerja proses degradasi bahan organik seperti proses aerobik dimana senyawa organik dioksidasi menjadi CO₂, H₂O, NH₄ dan biomassa baru (Sutanto, 2011).

2.8 Pengaruh Rumen Sapi terhadap Mikroalga

Menurut Harrison dan Berges (2005), isi rumen berpotensi sebagai pupuk karena mengandung mikroorganisme sehingga mampu meningkatkan nutrisi untuk pertumbuhan. Salah satu cara untuk meningkatkan pertumbuhan fitoplankton adalah mengontrol kandungan nutrisi baik makro maupun mikro pada lingkungan budidaya. Isi rumen sapi memiliki kandungan nutrisi cukup

tinggi karena belum terserap oleh usus halus sehingga nutriennya tidak berbeda dengan bahan bakunya, bahkan mengandung asam amino essensial dari protein mikroba. Untuk meningkatkan kandungan nutrisi tersedia pada rumen sapi, perlu dilakukan fermentasi.

Penelitian oleh Sambu, *et al.* (2016), yaitu dengan menggunakan pupuk rumen yang diberikan pada *Skeletonema costatum* sebagai pakan larva udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) untuk melihat sintasan larva. Perlakuan terbaik pada pemberian pakan dengan frekuensi 500 mL/wadah yaitu didapatkan sintasan 55,33%, disusul kepadatan 400 mL/wadah yaitu 45,17% dan sintasan terendah pada perlakuan 300 mL/wadah yaitu 32,50%. Berdasarkan hasil tersebut menunjukkan bahwa pemberian *Skeletonema costatum* yang di pupuk cairan rumen dengan kepadatan yang berbeda sangat berpengaruh terhadap kelulushidupan larva udang *Vannamei* stadia zoea sampai *Mysis*.

Penelitian Masithah, *et al.* (2011), pemanfaatan isi rumen sapi yang difermentasi dengan bakteri *Bacillus pumilus* terhadap kandungan klorofil pada kultur *Dunaliella salina*. Hasil pada penelitian ini dengan penggunaan fermentator bakteri *B. pumilus* pada rumen sapi berpengaruh nyata terhadap kandungan klorofil pada kultur *D. salina*. Dosis bakteri *B. pumilus* pada rumen sapi yang memberikan kandungan klorofil terbaik pada kultur *D. salina* adalah dosis fermentasi 7,5%. Isi rumen sapi yang difermentasi dengan *B. pumilus* sebagai pupuk dalam kultur *D. salina* memiliki nilai N yang cukup tinggi dan mampu menyediakan unsur hara.

Penelitian juga dilakukan oleh Masithah, *et al.* (2011), dengan penggunaan rumen sapi yang difermentasi dengan *B. pumilus* untuk pertumbuhan *D. salina* berpengaruh nyata yaitu dengan dosis bakteri *B. pumilus* 10% dengan penggunaan dosis pupuk rumen 1 mL/L dan mengalami fase puncak pada hari ketiga yaitu sebesar 875.000 sel/mL.

2.9 Pengaruh Nitrat dan Fosfat terhadap Pertumbuhan Mikroalga

Nitrat (NO_3^-) adalah bentuk utama nitrogen di perairan alami dan merupakan nutrisi utama bagi pertumbuhan alga. Nitrat digunakan oleh mikroalga untuk melangsungkan metabolisme dan bereproduksi (Bagus Ida, 2015). Nitrogen merupakan nutrisi yang dibutuhkan paling banyak untuk pertumbuhan fitoplankton yaitu sebagai unsur penting dalam pembentukan protein (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995). Menurut Oktaviani, *et al.* (2017), semakin tinggi kadar nitrat, maka pembentukan klorofil semakin tinggi, sehingga memicu pertumbuhan biomassa. Kadar lipid pada mikroalga berkaitan dengan kadar unsur hara yang diberikan. Unsur hara yang berpengaruh terhadap pertumbuhan mikroalga yaitu nitrat. Menurut Mackentum (1969), konsentrasi nitrat yang optimal untuk pertumbuhan fitoplankton pada perairan laut berkisar antara 3,9 ppm ($82,71 \mu\text{mol/kg}$) hingga 15,5 ppm ($328,73 \mu\text{mol/kg}$).

Fosfat merupakan nutrisi yang sangat diperlukan oleh produser sebagai tambahan fotosintesis. Fosfat berperan dalam proses metabolisme serta transfer energi di dalam sel (Boyd, 1982). Menurut Chrismanda, *et al.* (2006), nitrogen dan fosfor sangat berperan sebagai penyusun senyawa protein dalam sel, sehingga kekurangan kedua unsur tersebut menyebabkan sel-sel alga mengalami penurunan protein yang akan diikuti oleh degradasi berbagai komponen sel yang berkaitan dengan sintesa protein. Menurut Mackentum (1969), fosfat yang optimal untuk pertumbuhan fitoplankton berkisar $2,77 \mu\text{mol/kg}$ hingga $56,58 \mu\text{mol/kg}$.

3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Alat dan Bahan Penelitian

3.1.1 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain wadah kultur (toples plastik ukuran 1,8 liter), aerator, selang aerasi, pipet tetes, lampu TL 20 Watt (*Philips*), botol sprayer, *washing bottle*, refraktometer (*Master Refractometer*, Jepang), *thermometer*, pH meter, DO meter, *haemocytometer* 0,1 mm *Neubauer Assistend*, mikroskop (Olympus CX21, Jepang), *handtally counter*, botol film, pipet volume 10 mL *pyrex lwaki*, *cover glass*, erlenmeyer (50 mL, 500 mL, 1000 mL) *pyrex lwaki*, gelas ukur (100 mL, 1000 mL), *beaker glass* 500 mL *pyrex lwaki*, gayung, panci, spektrofotometer *Spectroquant pharo 300*, *bluetip*, oven *RedLine RE53*, bunsen, bak besar, *vaccum pump VE115 Value*, timbangan analitik *Radwag AS2201X*, lux meter *Sunche*, botol valcon kaca, *cuvet*, bola hisap, mikropipet *Eppendorf Research Plus*, *micro tube*, spatula, kalkulator, autoklaf GEA, *hot plate*, *vortex mixer*, nampan, kamera, bunsen.

3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian antara lain bibit *Chaetoceros calcitrans* berasal dari BBPBAP Jepara, pupuk rumen sapi, air laut, air tawar, *Bacillus subtilis*, tetes tebu, alkohol 70%, klorin (HCL) 37%, silikat (*Na-thiosulfat*), tissue, kapas, pupuk walne, vitamin, kertas saring GF/C (diameter 90 mm), *aquadest*, asam fenol disulfonik, *ammonium molybdate*, SnCl_2 , sulfat pentahidrat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), natrium karbonat (Na_2CO_3), natrium hidroksida (NaOH), reagen Folin-Ciocalteau, *potassium sodium tartrate tetrahydrate* ($\text{NaKC}_4\text{H}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), standar BSA (*bovine serum albumin*), *aluminium foil*, benang kasur, kertas koran, kertas label.

3.2 Media Penelitian

Media yang digunakan dalam penelitian adalah campuran air laut dan air tawar. Air laut diperoleh dengan cara dibeli dari Toko Tirta, Malang yang ditampung di dalam bak. Kemudian air tawar didapatkan dari tandon Laboratorium Reproduksi yang kemudian ditampung di dalam bak. Rumen sapi didapatkan dari Rumah Pemotongan Hewan (RPH) di Kota Batu. Rumen sapi terlebih dahulu difermentasi dengan penambahan bakteri *Bacillus subtilis* kepadatan 10^8 sel/mL yang berguna sebagai perombak bahan organik menjadi bahan anorganik agar dapat dimanfaatkan oleh alga dan didiamkan selama kurang lebih 7 hari. Sebelum digunakan sebagai pupuk mikroalga diukur lagi kandungan N, P dan TOC. Selanjutnya dilakukan proses sterilisasi dan kemudian baru diaplikasikan menjadi pupuk dalam kultur *C. calcitrans*. Kandungan pupuk rumen sapi sebelum dan sesudah difermentasi dapat dilihat pada Lampiran 4.

3.3 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian adalah metode eksperimen. Pada dasarnya metode eksperimen yang dilakukan untuk mengungkapkan hubungan sebab akibat dua variabel atau lebih, dengan mengendalikan pengaruh variabel yang lain. Metode eksperimen dilaksanakan dengan memberikan variabel bebas secara sengaja (bersifat indus) kepada objek penelitian untuk diketahui akibatnya di dalam variabel terikat (Zulnaidi, 2007).

3.4 Rancangan Percobaan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah RAL (Rancangan Acak Lengkap). Menurut Sastrosupadi (2000), rancangan acak lengkap (RAL) digunakan untuk suatu percobaan yang mempunyai media atau tempat percobaan yang seragam atau homogen, sehingga rancangan acak lengkap banyak digunakan untuk percobaan laboratorium, rumah kaca dan peternakan,

karena pada media yang digunakan bersifat homogen. Maka dari itu media percobaan tidak memberikan pengaruh pada respon yang diamati. Keuntungan dari penggunaan rancangan acak lengkap ini antara lain adalah denah perancangan percobaan lebih mudah, analisis statistik terhadap subjek percobaan lebih sederhana dan fleksibel dalam penggunaan jumlah perlakuan dan jumlah ulangan.

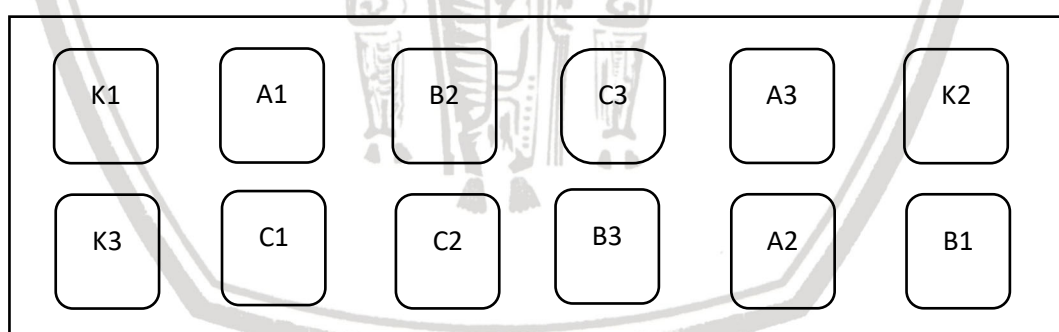
Penelitian ini dilakukan dengan perlakuan pemberian pupuk rumen sapi yang diberikan ke media *Chaetoceros calcitrans*. Pada penelitian ini digunakan 1 kontrol sebagai pembanding perlakuan *C. calcitrans* dengan pupuk walne. Penelitian dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali, dari perlakuan tersebut diperoleh total kultur sebanyak 12 sampel dan dapat dilihat pada Gambar 3 untuk denah penelitiannya. Sehingga tiap perlakuan dapat dilihat sebagai berikut:

A : Perlakuan pemberian pupuk rumen sapi sebanyak 20 mL/L

B : Perlakuan pemberian pupuk rumen sapi sebanyak 30 mL/L

C : Perlakuan pemberian pupuk rumen sapi sebanyak 40 mL/L

K :Pemberian pupuk walne 1 mL/L



Gambar 3. Denah Penelitian Rancangan Acak Lengkap

Keterangan :

A, B, C: Perlakuan

K : Kontrol

1 - 3 : Ulangan

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Persiapan Penelitian

a. Sterilisasi Alat dan Bahan

Tahap awal dalam kultur mikroalga sterilisasi sangat diperlukan. Sterilisasi merupakan proses membunuh mikroorganisme yang tidak diinginkan pada alat, bahan ataupun media yang akan digunakan. Sterilisasi yang digunakan adalah sterilisasi menggunakan autoklaf, perebusan, sterilisasi kimia (Suminto, 2009). Bagan proses sterilisasi dapat dilihat pada Lampiran 3.

Peralatan yang akan disterilisasi sebaiknya dicuci bersih terlebih dahulu menggunakan sabun lalu dibilas dengan air tawar hingga bersih lalu dikeringkan. Untuk alat seperti pipet tetes dan pipet volume dimasukkan kapas dan dibungkus kertas koran lalu diikat dengan benang kasur. Setelah itu, alat – alat tersebut diatur ke dalam autoklaf dan ditutup rapat. Autoklaf pada suhu 121° C dan tekanan 1 atm yang dioperasikan selama 15 menit (Pal, *et al.*, 2013). Untuk peralatan yang berukuran besar seperti toples disterilkan dengan cara direndam dengan air tawar yang diberi klorin 30 ppm selama 24 jam, lalu diberi *Na-thiosulfat* 15 ppm hingga bau klorin hilang. Setelah itu, toples dibilas dengan air tawar (Suminto, 2009).

Media kultur berupa air tawar dan air laut untuk kultur disterilisasi. Media yang akan digunakan ditampung terlebih dahulu pada bak besar kemudian disterilisasi dengan memberikan larutan klorin sebanyak 30 ppm selama 24 jam, kemudian dinetralkan menggunakan *Na-thiosulfat* sebanyak 15 ppm dan diberi aerasi (Suminto, 2009).

b. Penyiapan Media Kultur

Media kultur yang digunakan adalah air laut salinitas 35 ppt yang didapatkan di Toko Tirta Malang dan air tawar didapatkan dari tandon air laboratorium Reproduksi Ikan. Pembuatan media dengan campuran air laut sebanyak 891,42

mL dan air tawar sebanyak 308,57 mL untuk mendapatkan salinitas yang diinginkan yaitu sebesar 26 ppt. Perhitungan pengenceran dapat dilihat pada Lampiran 4. Media kultur yang digunakan ditampung ke dalam bak. Sebelum digunakan, media kultur dimasukkan ke dalam toples plastik dan dicampur dengan pupuk cairan rumen sapi sesuai perlakuan yang digunakan.

c. Fermentasi Rumen Sapi dengan Bakteri *Bacillus subtilis*

Rumen sapi yang sudah dikeringkan lalu diambil untuk digiling dan selanjutnya di timbang sebanyak 20 gram. Setelah itu di ukur kandungan N, P dan TOC. Rumen sapi yang sudah ditimbang langsung difermentasi dengan isolat bakteri yaitu *Bacillus subtilis* dengan dosis 10^8 sel/mL. Sebagai aktivator ditambahkan tetes tebu 4% dan air 1,5 mL air, lalu diaduk sampai homogen. Rumen sapi di tempatkan pada wadah tertutup (anaerob) dan tidak terkena cahaya (gelap) dan di inkubasi atau di diamkan selama 7 hari. Pada saat proses fermentasi suhu yang diinginkan yaitu $27 - 32^{\circ}\text{C}$. Setelah diinkubasi rumen dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 105°C selama 24 jam (Masithah dan Nova, 2011). Bagan proses fermentasi rumen sapi dapat dilihat pada Lampiran 1.

d. Pembuatan Pupuk Rumen Sapi yang Telah di Fermentasi

Rumen sapi yang telah dikeringkan dan telah melalui proses fermentasi ditimbang sebanyak 10 gr untuk dilarutkan kedalam 1000 mL aquades. Konsentrasi larutan rumen sapi yang digunakan pada penelitian ini adalah 10 ppm. Setelah dilarutkan ke dalam erlenmeyer lalu dihomogenkan dan selanjutnya didiamkan hingga terlihat ada tidaknya endapan pada pupuk rumen. Sebelum dilakukan proses sterilisasi terlebih dahulu pupuk rumen sapi diukur kandungan N, P dan TOC. Selanjutnya dilakukan sterilisasi yaitu erlenmeyer ditutup menggunakan kapas yang diberi kasa dan ditutup menggunakan alumunium foil lalu sterilisasi didalam autoklaf dengan suhu 121°C selama 15-20 menit. Bagan pembuatan pupuk rumen dapat dilihat pada Lampiran 2.

e. Penyiapan Inokulan *Chaetoceros calcitrans*

Stok *Chaetoceros calcitrans* diperoleh dari kultur murni Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara. Stok yang didapat kemudian diperbanyak dengan cara dikultur di erlenmeyer ukuran 2 liter yang dilakukan di Laboratorium Reproduksi Ikan. Media yang digunakan pada kultur stok *C. calcitrans* bersalinitas 26 ppt dengan volume kultur 1000 mL dan diberi masing – masing silikat, vitamin dan walne dengan dosis 1 mL/L. Stok alga yang didapatkan lalu dihitung kepadatan awalnya untuk mengetahui seberapa banyak yang akan ditebar pada media kultur. Setelah diketahui kepadatannya, ditentukan kepadatan yang akan digunakan dengan rumus pengenceran kemudian diberi aerasi dan ditutup dengan kapas yang diberi kain kasa untuk menghindari kontaminasi. Suhu ruang yang digunakan 28° C dengan intensitas cahaya 3.000 lux. Perhitungan pengenceran dapat dilihat lebih jelasnya pada Lampiran 6, sedangkan rumus pengenceran yang digunakan menurut Jati, *et al.* (2012), adalah sebagai berikut.

$$V1 \times N1 = V2 \times N2$$

Keterangan:

V1 : volume stok untuk penebaran awal (mL)

N1 : jumlah stok yang akan ditebar (sel/mL)

V2 : volume media yang dikehendaki (mL)

N2 : jumlah stok yang dikehendaki (sel/mL)

3.5.2 Pelaksanaan Penelitian

Wadah yang disterilisasi disusun di atas rak percobaan. Lampu berintensitas 3.000 lux, salinitas 26 ppt dan suhu berkisar antara 28° C - 30° C dengan volume kultur yang digunakan 1200 mL. Selanjutnya pupuk rumen sapi yang dicampur dengan air laut dan air tawar sesuai dengan perlakuan yang telah

ditentukan yaitu perlakuan K (kontrol walne 1mL/L), perlakuan A (pupuk rumen sapi 20mL/L), perlakuan B (pupuk rumen sapi 30mL/L), perlakuan C (pupuk rumen sapi 40mL/L). Kemudian diberikan aerasi selama 15 menit dengan menggunakan aerator melalui selang. Lalu setelah 15 menit diberikan inokulan dengan padat tebar awal *C. calcitrans* sebanyak 5×10^5 sel/mL (Chotipuntu, 2005). Pengamatan pertumbuhan dilakukan setiap 24 jam selama masa kultur sekitar 6 hari sampai 7 hari kultur. Lalu untuk menghitung biomassa dilakukan pada saat mengalami fase kepadatan tertinggi. Parameter penunjang yang diukur pada media pemeliharaan *C. calcitrans* yaitu meliputi suhu, pH, salinitas, DO, nitrat dan fosfat. Adapun pengukuran suhu dilakukan satu hari dua kali yaitu pagi dan siang hari untuk pengukuran pH, salinitas dan DO dilakukan sekali sehari, sedangkan untuk pengukuran kandungan nitrat dan fosfat dilakukan pada awal tebar, fase eksponensial dan fase stasioner.

3.6 Parameter Uji

3.6.1 Parameter Utama

a. Pertumbuhan

Perhitungan kepadatan *C. calcitrans* dilakukan setiap hari dari awal kultur hingga akhir percobaan. Perhitungan kepadatan *Chaetoceros calcitrans* dilakukan menggunakan *haemocytometer* 0,1 mm deep *Neubauer* dan menggunakan alat bantu berupa mikroskop (*Olympus CX21*, Jepang) dan *handtally counter*. Perhitungan kepadatan plankton menurut Cresswell (2010), dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Jumlah (sel/ml)} = \frac{n}{\text{Jumlah Bidang Pandang}} \times 25 \times 10^4$$

Apabila kepadatan inokulan *C. calcitranstinggi* maka perlu dilakukan pengenceran agar hasil hitungan lebih akurat dan maksimal. Rumus yang digunakan sebagai berikut:

$$\text{Jumlah (sel/ml)} = \frac{n}{\text{Jumlah Bidang Pandang}} \times 25 \times 10^4 \times \text{Faktor Pengencer}$$

– Laju Pertumbuhan Spesifik

Perhitungan laju spesifik dari pertumbuhan saat awal kultur hingga puncak kelimpahan maksimum. Laju pertumbuhan spesifik menurut Krichnavaruk, *et al.* (2004), dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\mu(\text{/hari}) = \frac{\ln(x_2) - \ln(x_1)}{T_1 - T_0}$$

Keterangan:

- μ : laju pertumbuhan spesifik (/hari)
 x_1 : konsentrasi sel pada T_0 (sel/mL)
 x_2 : konsentrasi sel pada T_t (sel/mL)
 T_0 : waktu awal sampling (jam)
 T_t : waktu akhir sampling (jam)

– Doubling time

Doubling time (dt) ialah waktu pengandaan dari sel biomassa *C. calcitrans*. Waktu penggandaan sel (dt) merupakan rata – rata waktu generasi konsentrasi sel yang dihitung dari laju pertumbuhan berdasarkan rumus Ak, *et al.* (2008), dengan rumus sebagai berikut:

$$dt(\text{hari}) = \frac{\ln 2}{\mu} = \frac{0,693}{\mu}$$

b. Biomassa

Biomassa *C. calcitrans* dianalisis menurut Janssen, *et al.* (1999), yaitu pengukuran biomassa *C. calcitrans* dilakukan pada fase kepadatan tertinggi. Kertas saring GF/C (diameter 90 mm) dikeringkan pada suhu 105° C selama 2 jam hingga beratnya konstan. Kemudian ditimbang menggunakan timbangan digital dan dihitung sebagai A. Lalu ambil suspensi sampel mikroalga sebanyak 25 mL dan disaring dengan kertas saring GF/C dan dibilas dengan 25 mL akuades untuk menghindari kontaminasi garam yang tidak larut pada media. Kemudian kertas saring diletakkan di oven pada suhu 105° C selama 2 jam hingga beratnya konstan. Setelah dingin, kertas saring diletakkan di desikator selama 30 – 60 menit, dan beratnya ditimbang kembali dan dihitung sebagai [B]. Rumus perhitungan biomassa adalah sebagai berikut:

$$\text{Berat kering atau Biomassa (g/L)} = \frac{B - A}{\text{Volume Sampel}} \times 1000$$

Keterangan :

A : Berat kertas saring

B : Berat kertas saring + alga

c. Kandungan Protein

Analisis protein dilakukan dengan cara menggunakan metode Lowry (1951), yaitu terlebih dahulu dibuat reagen A 5% Na₂CO₃, reagen B 1% CuSO₄.5H₂O, reagen C 2% NaKC₄H₆.4H₂O, reagen D campuran 50 mL dari reagen A + 1 mL reagen B + 1 mL reagen C, reagen Folin-Ciocalteu, 1N NaOH dan larutan standar BSA. Setelah itu dipersiapkan larutan BSA dengan konsentrasi 2 mg/mL. Kemudian ditambah 0,5 mL 1N NaOH ke dalam 0,5 mL suspensi alga atau standar dan dipanaskan pada suhu 100°C selama 10 menit pada *water bath* kemudian ditunggu hingga dingin. Selanjutnya ditambah kan 2,5mL reagen D ke

masing-masing tabung dan dihomogen hingga merata menggunakan *vortex* dan didiamkan selama 10 menit. Kemudian ditambah 0,5 mL reagen Folin-Ciocalteau dan dihomogenkan lagi hingga merata menggunakan *vortex* dan tunggu selama 30 menit. Selanjutnya dimasukkan ke spektrofotometer pada absorbansi 750 nm. Rumus perhitungan protein adalah sebagai berikut:

$$\text{Protein \%} = \frac{\left(\frac{\text{OD}-a}{b}\right)}{\text{berat kering (gr)} \times 1.000} \times 100$$

Keterangan:

OD : Hasil dari spektrofotometer dengan panjang gelombang 750 nm

a : Intersep dalam persamaan regresi larutan *Bovine Serum Albumin* (BSA)

b : Slope dalam persamaan regresi larutan *Bovine Serum Albumin* (BSA)

3.6.2 Parameter Penunjang

a. Suhu

Pengukuran suhu menggunakan termometer dengan cara dicelupkan ke dalam media kultur *Chaetoceros calcitrans* lalu dicatat hasilnya. Pengukuran dilakukan dua kali dalam satu hari yaitu pada pagi hari pukul 08.00 WIB dan sore hari pukul 14.00 WIB.

b. Salinitas

Pengukuran salinitas menggunakan refraktometer dengan cara meneteskan media kultur pada kaca refraktometer dan dicatat hasilnya di dekat cahaya. Pengukuran salinitas dilakukan sebanyak 1 kali sehari setiap 24 jam pada pukul 08.00 WIB

c. Oksigen Terlarut (DO)

Pengukuran oksigen terlarut menggunakan DO meter dengan cara dicelupkan ke dalam toples lalu didiamkan sampai angka menunjukkan tanda diam dan

dicatat hasilnya. Pengukuran DO dilakukan sebanyak 1 kali sehari setiap 24 jam pada pukul 08.00 WIB.

d. pH

Pengukuran pH menggunakan pH meter dengan cara dicelupkan ke dalam toples lalu didiamkan dan dicatat hasilnya. Sebelum dicelupkan ke air media kultur lebih baik pH meter dikalibrasi dengan menggunakan aquades. Pengukuran pH dilakukan sebanyak 1 kali sehari setiap 24 jam pada pukul 08.00 WIB.

e. Pengukuran Kadar Nitrat

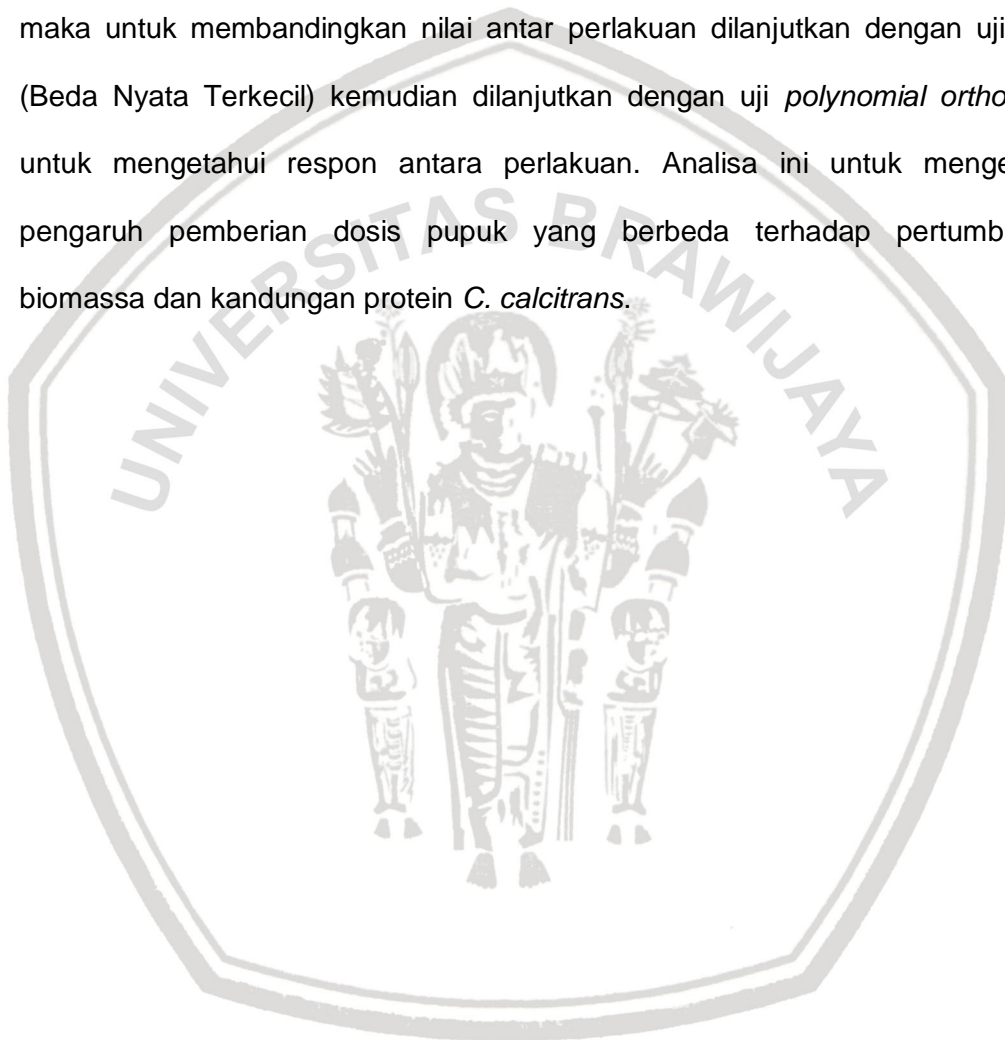
Pengukuran kadar nitrat dilakukan sebanyak tiga kali yaitu pada hari ke- 0, hari ke- 3, dan hari ke- 4 atau 6. Menurut Boyd (1979), pengukuran kadar nitrat diawali dari air sampel dituang sebanyak 12,5 ml ke cawan porselen dan dipanaskan sampai kerak dan didinginkan. Kemudian ditambahkan 0,25 ml asam fenol disulfonik (6 – 7 tetes). Selanjutnya tambah sedikit H_2O dan dikerik sampai keraknya larut semua. Sampel ditambahkan NH_4OH 1:1 sampai berwarna kuning dan jika sudah 6 ml tapi tidak berwarna kuning maka dihentikan, lalu ditambahkan H_2O sampai seperti volume semula (12,5 ml). Sampel dimasukkan ke cuvet untuk diukur dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 410 nm.

f. Pengukuran Kadar Fosfat

Pengukuran kadar fosfat dilakukan sebanyak tiga kali yaitu dilakukan pada hari ke- 0, hari ke- 3, dan hari ke- 4 atau 6. Menurut Boyd (1979), cara pengukuran fosfat yaitu air sampel diambil 25 mL. Selanjutnya ditambahkan 1 mL *ammonium molybdate*. Lalu ditetesi dengan 5 tetes $SnCl_2$ dan dihomogenkan, ditunggu sampai 10 menit hingga berwarna biru. Kemudian, dimasukkan ke dalam cuvet. Kadar fosfat diukur dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 690 nm.

3.7 Analisis Data

Analisis data dihitung dari masing-masing perlakuan diuji secara statistik dengan menggunakan *analysis of variance* (ANOVA) sesuai dengan rancangan yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) pada selang kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$). Apabila dari data sidik ragam menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata atau berbeda sangat nyata ($F_{\text{hitung}} > F_{\text{tabel}}$) maka untuk membandingkan nilai antar perlakuan dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) kemudian dilanjutkan dengan uji *polynomial orthogonal* untuk mengetahui respon antara perlakuan. Analisa ini untuk mengetahui pengaruh pemberian dosis pupuk yang berbeda terhadap pertumbuhan, biomassa dan kandungan protein *C. calcitrans*.



4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan dengan memberikan perlakuan dosis pupuk rumen sapi untuk melihat pengaruhnya terhadap pertumbuhan *Chaetoceros calcitrans* diperoleh data laju pertumbuhan spesifik, biomassa, dan kandungan protein *C. calcitrans* seperti pada Tabel 2. Adapun perhitungan lengkapnya terdapat pada Lampiran 10, Lampiran 13 dan Lampiran 14.

Tabel 2. Rata-rata Parameter Utama Selama Penelitian

Parameter	Perlakuan Pupuk Rumen Sapi (mL/L)			
	K (Walne)	A (20)	B (30)	C (40)
Laju Pertumbuhan Spesifik (/Hari)	0,545±0,000 7 ^d	0,516±0,007 0 ^c	0,499±0,013 0 ^b	0,458±0,006 0 ^a
Biomassa (g/L)	0,802±0,005 ^d	0,534±0,003 ^c	0,532±0,004 ^b	0,454±0,004 ^a
Protein (%)	10,871±0,12 4 ^d	4,013±0,065 ^c	3,144±0,019 ^b	2,632±0,075 ^a

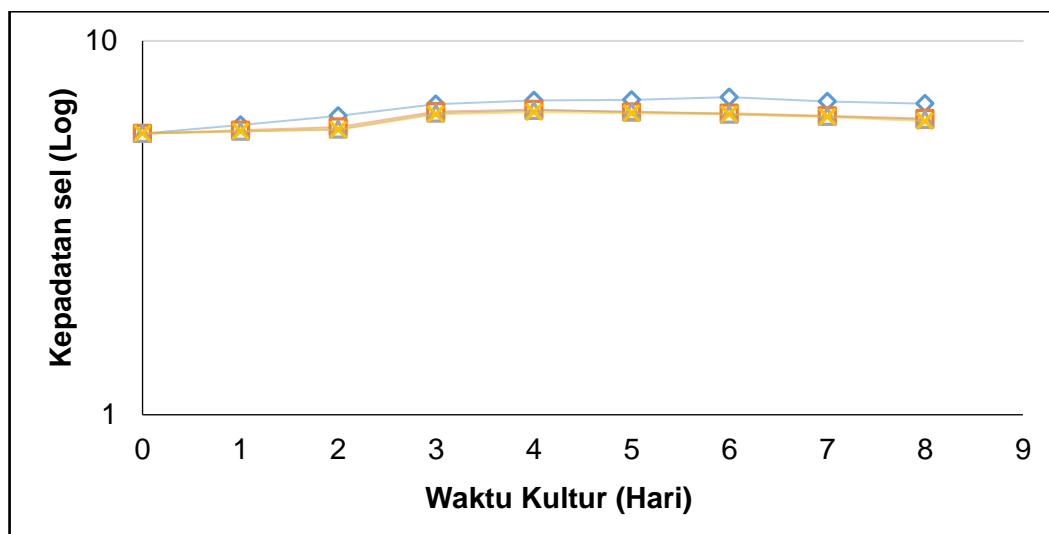
Keterangan :notasi yang berbeda menunjukkan adanya pengaruh pada setiap perlakuan, taraf tingkat kepercayaan 95 % ($\alpha = 0,05$).

Berdasarkan pada Tabel 2, menunjukkan bahwa penggunaan pupuk rumen sapi berpengaruh terhadap pertumbuhan, biomassa dan kandungan protein *C. calcitrans*.

4.1 Pertumbuhan *C. calcitrans*

Hasil pengamatan mengenai pertumbuhan *C. calcitrans* menunjukkan bahwa seluruh perlakuan berpengaruh terhadap pertumbuhan *C. calcitrans*. Pertumbuhan mikroalga terjadi peningkatan di awal kultur pada hari ke-1 dan akhirnya turun setelah mencapai puncak tertinggi pada hari ke-5. Pertumbuhan mikroalga juga dapat dilihat atau ditandai dengan adanya perubahan warna pada media kultur karena konsentrasi selnya berbeda atau konsentrasi selnya sudah

naik dari penebaran awal. Grafik pertumbuhan *C. Calcitrans* berdasarkan jumlah sel dapat dilihat pada Gambar 4 dan data pertumbuhan *C. calcitrans* secara rinci dapat dilihat pada Lampiran 7.



Gambar 4. Pertumbuhan *Chaetoceros calcitrans*

Keterangan:

- K (—◆—): Kontrol walne 1 mL/L
- A (—□—): Pupuk rumen sapi 20 mL/L
- B (—△—): Pupuk rumen sapi 30 mL/L
- C (—×—): Pupuk rumen sapi 40 mL/L

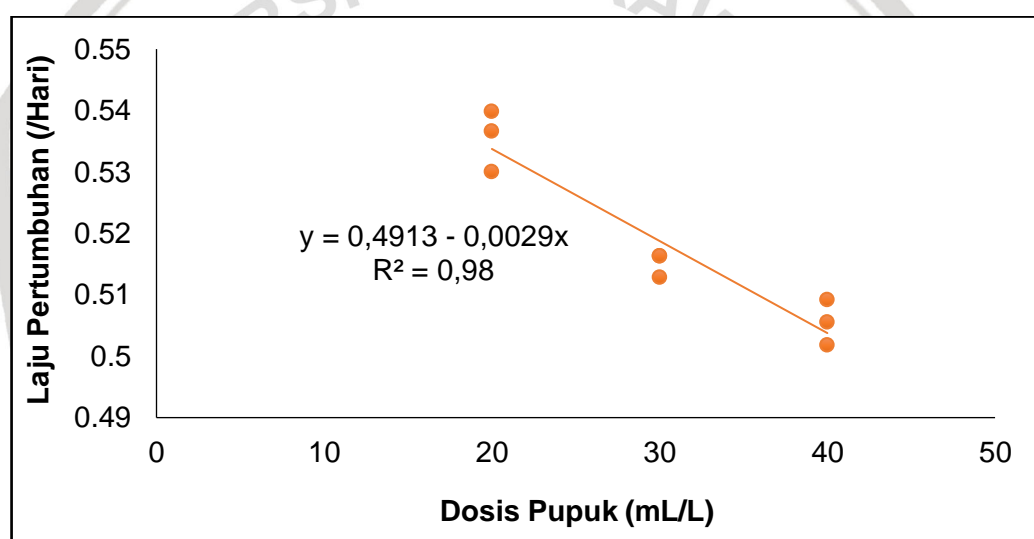
Pertumbuhan *C. calcitrans* semakin meningkat sesuai dengan lamanya waktu dimulai dari awal penebaran yaitu dengan konsentrasi 5×10^5 sel/mL. Menurut Sorokin dan Krauss (1959), pertumbuhan sel paling sering diukur sebagai peningkatan massa. Faktor yang dapat memberikan pengaruh dalam sel individu tergantung oleh pembelahan selnya. Pembelahan sel mikroalga akan berbeda pada setiap fase pertumbuhannya yang berawal dari fase adaptasi, fase eksponensial, fase stasioner dan kematian. K, perlakuan A, B, C mengalami fase adaptasi lebih cepat yaitu kurang dari 24 jam, hal itu terjadi karena kepekatan pada media dengan sel hampir sama. Sutomo (2005), menjelaskan bahwa *Chaetoceros* sp. memiliki fase adaptasi yang lebih cepat dibandingkan mikroalga

lainnya dengan nilai laju pertumbuhan yang tinggi. Fase adaptasi terkadang tidak terjadi bila kondisi lingkungan telah sesuai dengan keadaan yang sebelumnya. Lama tidaknya fase lag atau adaptasi ini tergantung pada viabilitas sel. Semakin muda sel inokulan yang digunakan, maka sel mikroalga akan terus aktif dalam pembelahan. Menurut Prihantini, *et al.* (2007), inokulasi mikroalga yang kaya nutrisi terjadi fase adaptasi yang tidak terlihat, sehingga akan memasuki fase eksponensial yang lebih cepat.

Fase log pada perlakuan K terjadi pada hari ke- 1 hingga hari ke- 5. Perlakuan A, B dan C mulai mengalami fase log pada hari ke – 2 hingga hari ke- 3. Pada fase eksponensial ditandai dengan meningkatnya jumlah sel sebanyak dua kali lipat dari sel pada hari pertama kultur. Menurut Suantika dan Hendrawan (2009), pertumbuhan sel tercepat terjadi ketika fase eksponensial, dimana pada fase ini sel mikroalga membelah dengan cepat dan konstan mengikuti kurva logaritmik. Fase ini terjadi ketika adaptasi sel untuk aktivitas pertumbuhan dalam keadaan terbaik. Fase eksponensial terjadi ketika nutrisi, pH, dan cahaya pada media kultur berada dalam batas toleransi fisiologi mikroalga sehingga sel mampu bereproduksi yang ditandai dengan bertambahnya konsentrasi sel (Kawaroe, *et al.*, 2009).

Fase stasioner pada K terjadi pada hari ke – 6 sedangkan perlakuan A, B dan C terjadi pada hari ke – 4. Fase ini terjadi karena laju pertumbuhan sama dengan laju kematian mikroalga sehingga kepadatannya relatif tetap. Penurunan pertumbuhan sel terjadi karena nutrisi untuk pertumbuhan telah dimanfaatkan pada fase sebelumnya yaitu fase eksponensial. Menurut Panggabean (2012), menyatakan fase stasioner adalah fase pertumbuhan konstan yang dipengaruhi oleh kandungan nutrisi dalam media kultur semakin berkurang seiring dengan populasi yang semakin padat. Fase ini ditandai dengan pertumbuhan sel yang seimbang dengan pengurangan sel mikroalga akibat kematian.

Hari kelima dan ke tujuh terjadi fase terakhir pada *C. calcitrans* yaitu fase kematian (*death phase*) pada penelitian ini. Fase kematian ditandai dengan berkurangnya jumlah sel pada media kultur. Fase kematian terjadi setelah perlakuan mengalami puncak populasi yang disebabkan oleh jumlah nutrisi yang menurun seiring dengan lamanya waktu dalam volume kultur yang terbatas. Hal ini mengakibatkan mikroalga tidak mampu mempertahankan kepadatan selnya sehingga mengalami penurunan (Chilmawati dan Suminto, 2008). Menurut Coutteau (1996), bahwa selain berkurangnya nutrisi, fase kematian juga disebabkan oleh penurunan kualitas air, kandungan oksigen rendah, perubahan pH serta peningkatan suhu di dalam media.



Gambar5. Hubungan perbedaan dosis pupuk rumen sapi terhadap laju pertumbuhan spesifik *C. calcitrans*

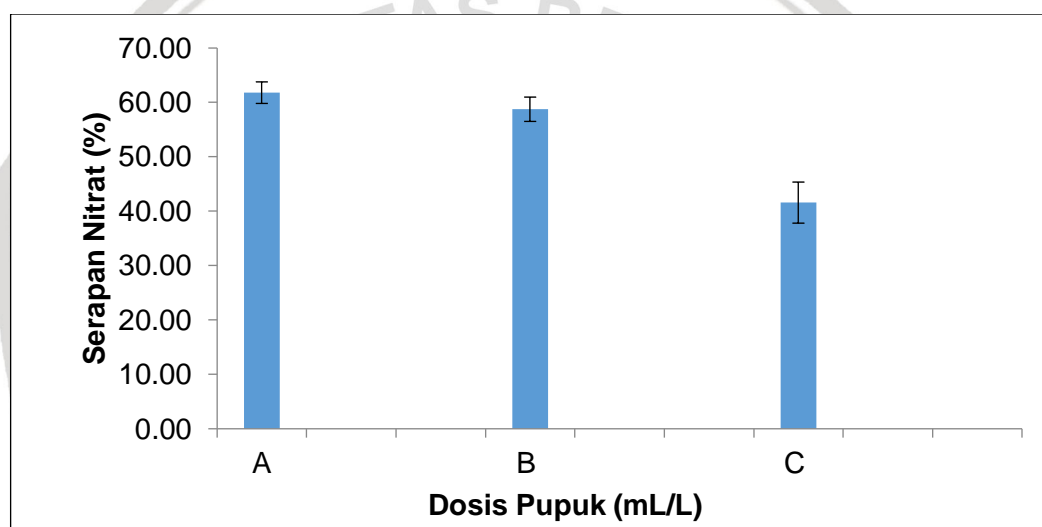
Berdasarkan hasil penelitian, untuk nilai laju pertumbuhan spesifik pada seluruh perlakuan menunjukkan adanya hubungan antara kepadatan sel dengan laju pertumbuhan spesifik. Laju pertumbuhan spesifik merupakan kecepatan pembelahan sel mikroalga dalam persatuan waktu (Soewardi, *et al.*, 2005). Data rata-rata semua perlakuan dapat dilihat pada Tabel 2 dan untuk lebih rincinya dilihat pada Lampiran 8. Untuk mengetahui hubungan perbedaan dosis pupuk rumen sapi terhadap laju pertumbuhan spesifik *C. calcitrans* maka dilakukan uji

polinomial orthogonal. Grafik uji polinomial orthogonal menunjukkan kurva respon dengan polaliniier $y = 0,4913 - 0,0029x$ dengan nilai R^2 (koefisien determinasi) sebesar 0,98 yang artinya perlakuan pupuk rumen sapi berpengaruh sebanyak 98%. Perhitungan lebih lengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 10.

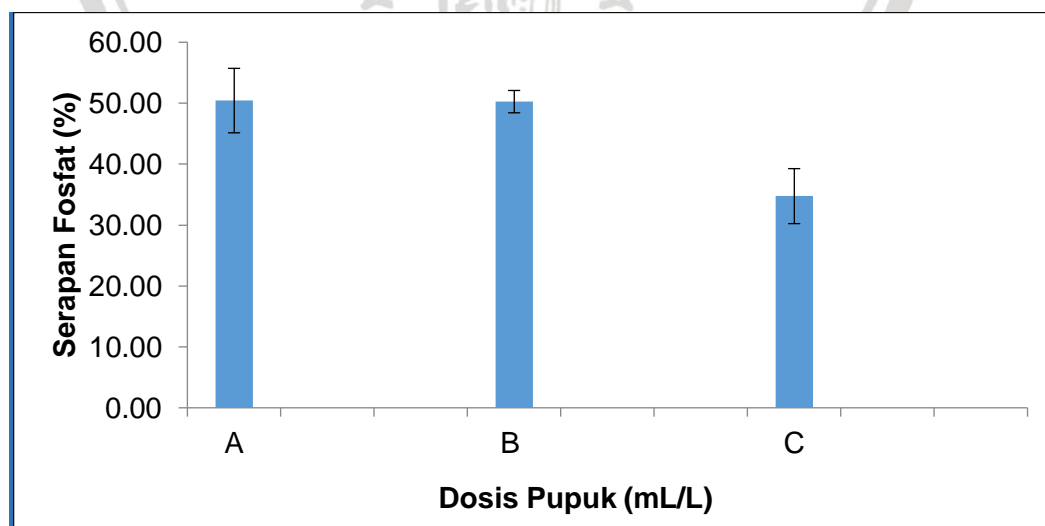
Berdasarkan Gambar 5, hubungan antara pengaruh pemberian pupuk terhadap laju pertumbuhan spesifik *C. calcitrans*, untuk nilai tertinggi didapatkan pada perlakuan A (20 mL/L) sebesar 0,516/hari dengan *doubling time* sebesar 1,342 hari dan untuk nilai terendah didapatkan pada perlakuan C (40 mL/L) sebesar 0,458/hari dengan *doubling time* sebesar 1,512 hari. Penelitian menggunakan pupuk organik dilakukan oleh Leksono, *et al.* (2017), menggunakan *Spirulina* sp dengan penggunaan pupuk *Azolla pinnata* yang sudah difermentasi dengan dosis terbaik pada perlakuan 18 mL/L dengan pola grafik linier, sedangkan hasil laju pertumbuhan spesifik sebesar 0,476/hari. Hasil tersebut hampir memiliki kesamaan dengan menggunakan pupuk rumen dengan dosis 20 mL/L yang memiliki hasil terbaik dengan pola grafik linier juga. Menurut Handayani (2003), perbedaan laju pertumbuhan spesifik pada setiap perlakuan disebabkan oleh kemampuan sel dalam menyerap unsur hara yang terdapat dalam media kultur, karena tidak semua bahan dapat langsung diserap dan digunakan oleh sel mikroalga. Menurut Sutomo (2005), rendahnya nilai laju pertumbuhan spesifik disebabkan karena kandungan nutrisi fosfat dan nitrat tidak dapat mencukupi kebutuhan mikroalga, dan juga faktor internal lain yaitu pada masing-masing penelitian memiliki strain atau spesies yang berbeda.

Pertumbuhan *C. calcitrans* sejalan dengan serapan nutrisi yang dibutuhkan yaitu nitrat dan fosfat. Serapan nitrat dan fosfat di media kultur digunakan untuk menghasilkan pertumbuhan *C. calcitrans* pada pengaruh dosis pupuk rumen sapi memberikan perbedaan variasi serapan nitrat (Lampiran 11) yang berbeda pada masing-masing perlakuan (Gambar 6). Hasil serapan nitrat tertinggi terdapat

pada perlakuan A (20mL/L) dengan nilai 61,80% sedangkan nilai terendah pada perlakuan C (40mL/L) dengan nilai sebesar 41,59%. Penelitian yang dilakukan Tantanasarit, *et al.* (2013), untuk nilai daya serap nitrat dari *C. calcitrans* sebesar 0,0629 pmol/sel/jam. Nutrien yang dibutuhkan *C. calcitrans* seperti nitrat dan fosfat di media kultur digunakan untuk menghasilkan pertumbuhan yang optimal. Bila nitrogen di media kultur sedikit akan memberikan penurunan pada laju pertumbuhan dan biomassa mikroalga (Chrismanda, *et al.*,2006). Kisaran nilai nitrat yang optimum untuk pertumbuhan mikroalga sebesar 1,20-2,50 mg/L (Yuliana dan Tamrin, 2007).



Gambar 6. Nilai Serapan Nitrat *C. calcitrans* Selama Penelitian



Gambar 7. Nilai Serapan Fosfat *C. calcitrans* Selama Penelitian

Keterangan :

A: Pupuk rumen sapi 20 mL/L

B: Pupuk rumen sapi 30 mL/L

C: Pupuk rumen sapi 40 mL/L

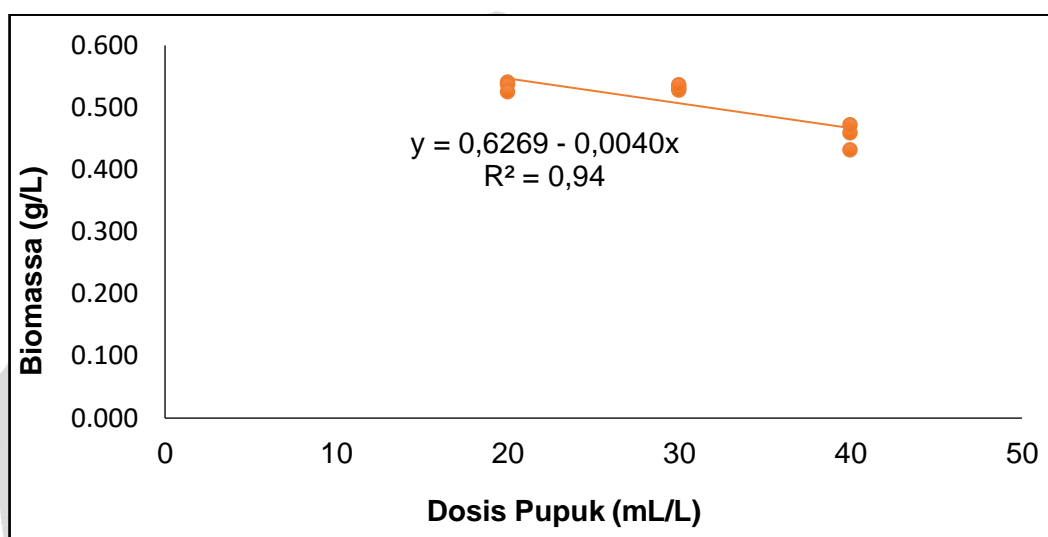
Dapat dilihat pada Gambar 7, bahwa nilai serapan fosfat (Lampiran 12), menunjukkan hasil tertinggi pada perlakuan A (20mL/L) sebesar 50,42% dan untuk hasil terendah untuk serapan fosfat terjadi pada perlakuan C (40mL/L) dengan nilai sebesar 34,74%. Menurut Tantanasarit, *et al.* (2013), fosfat mungkin tidak terlalu dibutuhkan dalam jumlah besar, namun perannya dalam mikroalga sangat besar. Fosfat dimanfaatkan dalam pembentukan asam nukleat, protein, fosfolipid dan transpor energi seperti ATP yang akan digunakan untuk proses fotosintesis dan proses respirasi. Kisaran nilai ortofosfat yang optimum untuk pertumbuhan mikroalga adalah 0,10-0,30 mg/L (Yuliana dan Tamrin, 2007). Menurut Chrismanda, *et al.* (2006), menyebutkan bila selama kultur terdapat kekurangan fosfat maka akan terjadi penurunan produktifitas mikroalga hingga 55%. Penelitian yang dilakukan sebelumnya menyebutkan bahwa terjadinya pengurangan produktivitas mikroalga dikarenakan adanya defisiensi unsur hara. Hal tersebut, berkaitan dengan berkurangnya kemampuan sel dalam membangun struktur fungsional yang terkait dengan unsur hara yang jumlahnya terbatas. Nitrogen dan fosfor sangat berperan sebagai penyusun senyawa protein dalam sel mikroalga sehingga kekurangan unsur-unsur tersebut akan mengakibatkan penurunan protein.

4.2 Biomassa *C. calcitrans*

Data hasil pengukuran biomassa *C. calcitrans* untuk seluruh perlakuan menunjukkan hasil yang berbeda sangat nyata. Biomassa yang dihasilkan pada

setiap selnya bergantung pada besar kecilnya ukuran sel serta kepadatan sel dalam media kultur. Grafik biomassa *C. calcitrans* dapat dilihat pada Gambar 8.

Data hasil pengamatan biomassa dapat dilihat pada Tabel 2 dan perhitungan sidik ragamnya dapat dilihat pada Lampiran 13. Perhitungan polynomial orthogonal untuk pengaruh perbedaan dosis pupuk rumen sapi terhadap biomassa *C. calcitrans* menghasilkan kurva respon dengan pola linier.



Gambar 8. Hubungan perbedaan dosis pupuk rumen sapi terhadap biomassa *C. calcitrans*

Hubungan perlakuan perbedaan dosis pupuk rumen sapi terhadap biomassa *C. calcitrans* (Gambar 8) menghasilkan persamaan linier $y = 0,6269 - 0,0040x$ dengan nilai R^2 (koefisien determinasi) sebesar 0,94 yang artinya perlakuan pupuk rumen sapi berpengaruh sebanyak 94% terhadap biomassa yang dihasilkan oleh *C. calcitrans*.

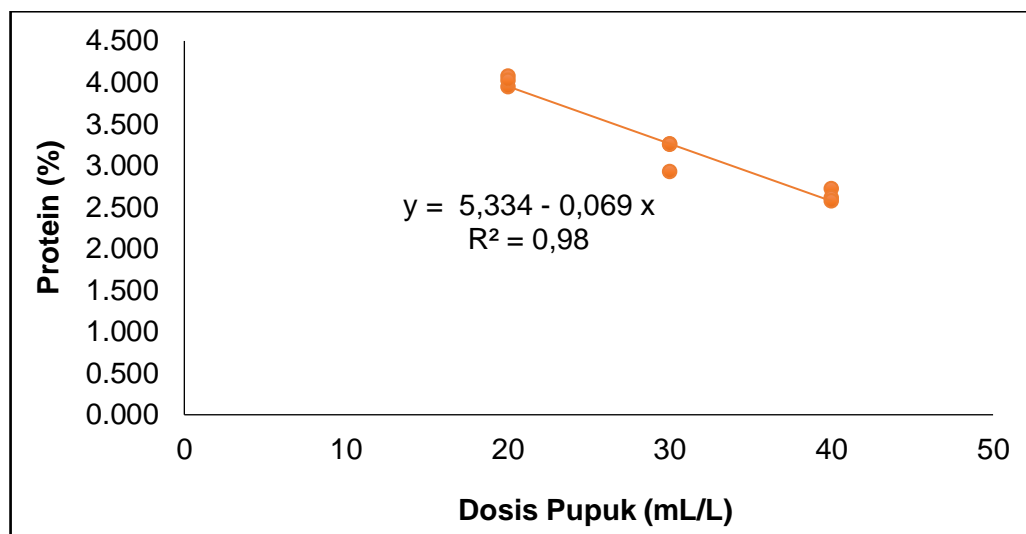
Berdasarkan penelitian didapat biomassa tertinggi pada perlakuan A (20 mL/L) sebesar 0,53 g/L dan biomassa terendah didapatkan pada perlakuan C (40 mL/L) sebesar 0,45 g/L. Kandungan pada masing-masing media kultur dapat mempengaruhi perbedaan jumlah biomassa dan ukuran sel yang dihasilkan pada saat kultur *C. calcitrans* (Triakurti, 2016). Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi dosis pupuk rumen sapi yang diberikan maka

semakin rendah laju pertumbuhan dan hal itu akan mempengaruhi nilai biomassa. Jika bahan organik tinggi maka diikuti juga nilai unsur hara pada pupuk juga akan tinggi. Berikut dijelaskan penelitian dari Rahmat, *et al.* (2013), bahwa pemberian pupuk organik dengan dosis 20% dan 25% hasil yang didapat lebih rendah dibandingkan dengan dosis 10% memberikan nilai biomassa sebesar 2,41 g/L. Hal tersebut diduga pada dosis yang terlalu tinggi menyebabkan kekeruhan yang tinggi pada media kultur, sehingga cahaya tidak dapat masuk. Menurut Masithah, *et al.* (2011), faktor utama pada kelimpahan biomassa adalah nutrisi dan cahaya. Sesuai pernyataan Kendirlioglu, *et al.* (2015), banyaknya cahaya yang masuk pada media kultur menyebabkan klorofil menyerap cahaya lebih banyak dan baik untuk proses fotosintesis, hal itu dapat meningkatkan pertumbuhan sel. Menurut Danesi, *et al.* (2004), konsentrasi sel atau kepadatan sel yang dihasilkan berbanding lurus dengan tingginya biomassa *C. calcitrans* maksimum setiap perlakuan yang diberikan.

4.3 Kandungan Protein *C. calcitrans*

Data hasil pengukuran protein *C. calcitrans* untuk seluruh perlakuan menunjukkan hasil yang berbeda nyata atau berpengaruh. Data hasil pengamatan protein dapat dilihat pada Tabel 2 dan perhitungan sidik ragamnya dapat dilihat pada Lampiran 14. Perhitungan polinomial orthogonal untuk pengaruh perbedaan dosis pupuk rumen sapi terhadap protein *C. calcitrans* menghasilkan kurva respon dengan pola linier (Gambar 9). Pola tersebut menghasilkan persamaan $y = 5,334 - 0,069 x$ dengan nilai R^2 (koefisien determinasi) sebesar 0,98 yang artinya perlakuan pupuk rumen sapi berpengaruh sebanyak 98% terhadap biomassa yang dihasilkan oleh *C. calcitrans*. Menurut Herlinah (2010), kandungan protein *C. gracilis* sebesar 21,78%. Brown, *et al.* (1997), menjelaskan bahwa pertumbuhan mikroalga dapat

memiliki pola logaritmik biasanya mengandung protein sebesar 30-40%. Pada fase pertumbuhan komposisi nutrisi dapat berubah karena kurangnya nitrat pada media kultur sehingga karbohidrat meningkat dan protein cenderung menurun.



Gambar 9. Hubungan perbedaan dosis pupuk rumen sapi terhadap protein *C. calcitrans*

Berdasarkan Gambar 9, hasil protein tertinggi terdapat pada perlakuan A (20mL/L) sebesar 4,01% sedangkan untuk protein terendah terdapat pada perlakuan C (40mL/L) dengan hasil sebesar 2,63%. Dari hasil penelitian tersebut, rendahnya kandungan protein yang dihasilkan ini dikarenakan mikroalga menguraikan kembali protein yang dihasilkan sebagai energi untuk pertumbuhannya. Perbedaan nilai protein juga diakibatkan perbedaan kondisi lingkungan, zat hara yang terkandung dalam pupuk, dosis pupuk yang diberikan dan kemampuan kultur alga dalam menyerap pupuk (Afandi, 2003). Menurut penjelasan Chilmawati dan Suminto (2012), kandungan protein dari sel diatom menjadi turun, karena hal itu disebabkan adanya persaingan dalam memperoleh makanan sehingga menyebabkan pembelahan serta pertumbuhan sel menjadi terganggu.

4.4 Kualitas Air

4.4.1 Suhu

Dari hasil pengamatan kualitas air untuk suhu yang dilakukan 2 kali sehari selama kultur didapatkan suhu berkisar 26–29 °C pada pagi hari dan 30–32 °C pada siang hari. Untuk nilai suhu lebih rincinya dapat dilihat pada Lampiran 14. Hal ini sesuai pada penelitian Indarmawan, *et al.* (2012), suhu optimal untuk kultur mikroalga *Chaetoceros* sp. adalah sekitar 28–36°C. Menurut Banerjee, *et al.* (2011), suhu yang baik untuk *C. calcitrans* adalah 25–36 °C. Pada suhu yang mendekati optimum untuk tumbuh, mikroalga dapat mentoleransi intensitas cahaya tinggi sebelum terhambat (Larsdotter, 2006). Menurut Maharsyah, *et al.* (2013), suhu pada siang hari cenderung lebih tinggi dari pada suhu di pagi hari. Hal itu membuat nilai suhu yang berubah relatif tidak konstan. Tetapi hal itu membuat populasi meningkat pada media kultur,

4.4.2 Salinitas

Dari hasil pengamatan kualitas air untuk salinitas didapatkan nilai salinitas selama penelitian berkisar 26–30 ppt. Untuk hasil salinitas lebih rincinya dapat dilihat pada Lampiran 14. Penelitian Jati, *et al.* (2012), menyebutkan kisaran salinitas yang didapat pada kultur *C. gracilis* sebesar 26–30 ppt. Nilai yang didapat pada penelitian menunjukkan bahwa *C. calcitrans* masih berada pada kisaran salinitas yang optimal untuk kultur. Kandungan nutrisi pada salinitas yang tinggi digunakan untuk tumbuh namun tidak optimum dikarenakan mikroalga harus melakukan adaptasi sehingga banyak energi yang tersimpan karena tidak mengeluarkan banyak energi saat melakukan proses ini (Widianingsih, *et al.* 2012). Penelitian dari Bartley, *et al.* (2013), menyebutkan bahwa pada salinitas tinggi mengakibatkan rendahnya kelimpahan sel.

4.4.3 Oksigen Terlarut (DO)

Dari hasil pengamatan kualitas air untuk oksigen terlarut (DO) didapatkan nilai DO selama penelitian berkisar 6,1–7,7 ppm. Untuk hasil oksigen terlarut lebih rincinya dapat dilihat pada Lampiran 14. Kisaran oksigen terlarut terbaik berkisar 6–8 ppm (Barus, 2004). Nilai yang didapat pada penelitian menunjukkan bahwa *C. calcitrans* masih berada pada kisaran oksigen terlarut yang optimal untuk kultur. Oksigen terlarut tidak hanya dipengaruhi oleh hasil fotosintesis mikroalga, akan tetapi oleh proses respirasi, dekomposisi oksidatif dari senyawa organik dan nilai tukar air (Kunlasak, *et al.*, 2013). Menurut Chi, *et al.* (2009), oksigen terlarut berpengaruh terhadap reproduksi sel namun tidak pada akumulasi lemak dan penambahan biomass.

4.4.4 pH

Dari hasil pengamatan kualitas air untuk didapatkan nilai pH selama penelitian berkisar 7,1–8,5. Untuk nilai pH lebih rincinya dapat dilihat pada Lampiran 14. Menurut Indarmawan, *et al.* (2012), kisaran pH *Chaetoceros* sp. berkisar 7–9. Nilai yang didapat pada penelitian menunjukkan bahwa *C. calcitrans* masih berada pada kisaran pH yang optimal untuk kultur. Kenaikan pH terjadi karena penguraian protein dan senyawa nitrogen lainnya seperti ammonium (NH_4^+) yang merupakan senyawa nitrogen organik (Prihantini, *et al.*, 2005). Menurut Larsdotter (2006), menjelaskan faktor lain yang menyebabkan pH meningkat selama kultur karena adanya asimilasi CO_2 untuk proses fotosintesis.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan mengenai pengaruh dosis pupuk rumen sapi yang berbeda terhadap pertumbuhan, biomassa, dan kandungan protein *Chaetoceros calcitrans* dapat diambil kesimpulan yaitu:

- Perbedaan dosis pupuk rumen sapi yang berbeda berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan, biomassa, dan kandungan protein *Chaetoceros calcitrans*.
- Dosis terbaik pupuk rumen sapi untuk pertumbuhan *Chaetoceros calcitrans* yaitu pada perlakuan A (pupuk rumen 20 mL/L) dengan hasil laju pertumbuhan sebesar 0,516/hari. Dosis terbaik pupuk rumen sapi untuk biomassa yaitu pada perlakuan A (pupuk rumen 20 mL/L) dengan berat biomassa sebesar 0,53 g/L. Dosis terbaik pupuk rumen sapi untuk protein yaitu pada perlakuan A (pupuk rumen 20 mL/L) dengan hasil 4,01%.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian tentang pengaruh dosis pupuk rumen sapi yang berbeda terhadap pertumbuhan, biomassa, dan kandungan protein *C. calcitrans* dapat disarankan menggunakan perlakuan dosis dibawah 20mL/L untuk mengetahui laju pertumbuhan, biomassa dan protein yang terbaik serta dapat dilakukan penelitian lanjutan mengenai perlakuan dosis pupuk rumen sapi terhadap *C. calcitrans* dengan parameter yang diuji yaitu kandungan lipid dan β -Karoten.

DAFTAR PUSTAKA

- Ak, I., S. Cirik, and T. Goksan. 2008. Effect of light intensity, salinity and temperature on growth in camalt strain of *Dunaliella viridis* teodoresco from Turkey. *Journal of Biological Sciences*. **8**(8): 1356-1359.
- Amanatin, D.R. dan T. Nurhidayati. 2013. Pengaruh kombinasi konsentrasi media ekstrak tauge (MET) dengan pupuk urea terhadap kadar protein *Spirulina* sp. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*. **2**(2): 182-185.
- Armanda, D.T. 2013. Pertumbuhan kultur mikroalga diatom *Skeletonema costatum* (Greville) Cleve isolate Jepara pada medium f/2 dan medium conway. *Bioma*. **2**(1): 49-63.
- Bagus, I. G. B. 2015. Pengaruh konsentrasi penambahan sodium nitrat dan sodium fosfat pada media *guillard* terhadap konsentrasi biomassa dan lemak mikroalga *Nannochloropsis* sp. SKRIPSI : Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Udayana. Bali. 54 hlm.
- Banerjee, S., W.E. Hew, H. Khatoon, M. Shariff and F.M. Yusoff. 2011. Growth and proximate composition of tropical marine *Chaetoceros calcitrans* and *Nannochloropsis oculata* cultured outdoors and under laboratory conditions. *African Journal of Biotechnology*. **10**(8): 1375-1383.
- Bartley, M.L., W.J. Boeing, A.A. Corcoran, F.O. Holguin and T. Schaub. 2013. Effects of salinity on growth and lipid accumulation of biofuel microalgae *Nannochloropsis salina* and invading organisms. *Biomass Bioenergy*. **54**: 83-88.
- Barus, T.A. 2004. Faktor-faktor lingkungan abiotik dan keanekaragaman plankton sebagai indikator kualitas perairan danau toba. *Jurnal Manusia dan Lingkungan*. **2**(2):64-72.
- Ben-Amotz, A. 1999. Production of β -carotene from *Dunaliella* in Cohen Chemical from mikroalga. Taylor and Francis Ltd, London, **UK.342**: 432 p.
- Bold, H.C and M.J. Wynne. 1985. Introduction to the Algae: Structure and Reproduction. 2nd edition. Prentice-Hall. Englewood Cliffs, New Jersey. 266 p.
- Boyd, C. E. 1979. Water quality in warmwater fish pond. Agricultural experiment station, Auburn university. Auburn, Alabama, **USA**. 359 p.
- _____, C. E. and F. Lichtkoppler. 1982. Water Quality Management in Pond Fish Culture. Auburn University, Auburn. 318 p.
- Brown, J. S. W., J. K. Volkman., Dunstan. 1997. Nutritional Properties of Microalgae for Mariculture. *Aquaculture*. **151**: 315-331.
- Campbell, N. A., J. B. Reece dan L. G. Mitchell. 2003. Biologi Edisi Kelima Jilid II. Erlangga. Jakarta. 88 hlm.

- Chepurnov, V.A., D.G. Mann, K. Sabbe and W. Vyverman. 2004. Experimental studies on sexual reproduction in diatoms. *International Review of Cytology*. **237**: 91-154.
- Chi, Z., Y. Liu, C. Frear, and S. Chen. 2009. Study of a two-stage growth of DHA producing marine algae *Schizochytrium limacinum* SR21 with shifting dissolved oxygen level. *Applied Microbiology and Biotechnology*. **81**: 1141- 1148.
- Chilmawati, D. dan Suminto. 2008. Penggunaan media kultur yang berbeda terhadap pertumbuhan *Chlorella* sp. *Jurnal Saintek Perikanan*. **4**(1): 42-49.
- _____, D dan Suminto. 2012. Pengaruh pencucian sel terhadap pertumbuhan dan nilai nutrisi *Chaetoceros gracilis*. *Buletin Oseanografi Marina*. **1**: 65-70.
- Chisti, Y. 2007. Biodiesel from microalgae. *J. Biotechnol Advances*. **25**: 294-306
- Chotipuntu, P. 2005. Marine diatom (*Chaetoceros calcitrans*) as a monospecies diet for conditioning oyster (*Crassostrea belcheri* Sowerby) broodstock. *Journal of Science and Technology*. **2**(2): 201-207.
- Chrismanda, T., L. M. Panggabean dan Y. Mardiaty. 2006. Pengaruh konsentrasi nitrogen dan fosfor terhadap pertumbuhan, kandungan protein, karbohidrat dan fikosianin pada kultur *Spirulina fusiformis*. *Jurnal Berita Biologi*. **8**(3): 163 – 169.
- Coutteau, P. 1996. Manual on production and use live food for aquaculture. FAO *Fisheries Technical Paper*. 361 p.
- Cresswell, L. 2010. Phytoplankton culture for aquaculture feed. Southern Regional Aquaculture Center. *University of Florida Sea Grant*. 1 – 16 pp.
- Danesi, E.D.G., O. Rangel-Yagui, J.C.M. Carvalho and S. Sato. 2004. Effect of reducing the light intensity o the growth and production of chlorophyll by *Spirulina plantesis*. *Biomass and Bioenergy*. **26**: 329-335.
- Fardiaz, S. 1988. Teknologi Fermentasi. Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi. Fakultas Teknologi Pertanian-IPB: Bogor. 54 hlm.
- Fogg, G. E and B. Thake. 1987. Algal Cultures and Phytoplankton Ecology. *The University of Wisconsin Press*. 219 p.
- Giovanardi, F., and R.A. Vollenweider. 2004. Trophic conditions of marine coastal waters: experience in applying in the Trophic Index TRIX to two areas of the Adriatic and Tyrrhenian seas. *Journal of Limnology*. **63**(2): 199-218.
- Haetami, K. Abun. Mulyani, Y. 2008. *Studi pembuatan probiotik (Bacillus licheniformis, Aspergillus ringer, dan Sacharomices cereviseae) sebagai feed suplement serta implikasinya terhadap pertumbuhan ikan nila*. SKRIPSI. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Padjajaran: Bandung. 98 hlm.

- Handayani L. 2003. Pertumbuhan *Spirulina platensis* yang dikultur dengan Pupuk Komersil dan Kotoran Puyuh. Jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Harrison, P. J and J. A. Berges. 2005. Marine culture media. *Essential of Medical Geology*. 21 – 34 pp.
- Hu, Q. 2013. Environmental effects on cell composition In Richmond, A. and Q. Hu (Eds.) *Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology*. Wiley Blackwell. West Sussex UK. 83-93 pp.
- Ihsan, A., S. Bahri dan Musafira. 2013. Produksi biogas menggunakan cairan isi rumen sapi dengan limbah cair tempe. *Online Jurnal of Natural Science*. **2**(2): 27 – 35.
- Indarmawan, T., A.S. Mubarak, dan G. Mahasri. 2012. Pengaruh konsentrasi pupuk *Azolla pinnata* terhadap populasi *Chaetoceros* sp. *Journal of Marine and Coastal Science*. **1**(1): 61-70.
- Irawati, N. 2014. Pendugaan kesuburan perairan berdasarkan sebaran nutrisi dan klorofil-a di teluk Kendari Sulawesi Tenggara. *Aquasains*. **3**(1): 193 - 200.
- Ismi, S., Y.N. Asih, B. Slamet, dan K. Suwira. 2012. Pengaruh kepadatan *Nannochloropsis* sp. pada pemeliharaan larva kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*) secara terkontrol. *Jurnal Riset Akuakultur*. **7**(3): 407-419.
- Isnansetyo, A dan Kurniastuty. 1995. Teknik Kultur Phytoplankton dan Zooplankton. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. 116 hlm.
- Janssen, A. 1999. Plants with spider-mite prey attract more predatory mites than clean plants under greenhouse conditions. *Entomol*. **90** : 191-198.
- Jati, F., J. Hutabarat, dan V. E. Herawati. 2012. Pengaruh penggunaan dua jenis media kultur teknis yang berbeda terhadap pola pertumbuhan, kandungan protein dan asam lemak omega 3 EPA (*Chaetoceros gracilis*). *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **1**(1): 221-235.
- Kawaroe, M., T. Prartono., A. Sunudin., D. W. Sari., D. Agustine. 2010. Mikroalga Potensi dan Pemanfaatannya untuk Produksi Bio Bahan Bakar. IPB Press. Bogor: 150 hlm.
- Krichnavaruk, S., W. Loataweesup, S. Powtongsook, and P. Pavasant. 2005. Optimal growth condition and the cultivation of *Chaetoceros calcitrans* in airlift photobioreactor. *Chemical Engineering Journal*. **105**: 91-98.
- Kunlasak, K., C. Chitmanat, N. Whangchai, J. Promya, and L. Lebel. 2013. Relationships of dissolved oxygen with chlorophyll-a and phytoplankton composition in tilapia ponds. *International Journal of Geosciences*. **4**: 46-53.
- Lavens, P and P. Sorgeloos. 1996. Manual on the Production and Use of Live Food for Aquaculture. *FAO Fisheries Technical Paper*. **361**: 1 – 295.

- Lee, Y., W. Chen, H. Shen, D. Han, Y. Li, H.D.T. Jones, J.A. Timlin and Q. Hu. 2013. Basic culturing and analytical measurement techniques In Richmond, A. and Q. Hu (Eds.), Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology. Wiley Blackwell. West Sussex, UK. 37-68 pp.
- Leksono, A. W., D. Mutiara dan I. A. Yusanti. 2017. Penggunaan pupuk organik cair hasil fermentasi dari *Azolla pinnata* terhadap kepadatan sel *Spirulina* sp. *Jurnal Ilmu-ilmu Perikanan dan Budidaya Perairan*. **12**(1): 56-65.
- Lowry, O.H., N.J Roseborough., A.L. Farr and R.J. Randall. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagen. *J. Biol. Chem.* **193** : 265-275.
- Mackentum, K.M. 1969. The Practice of Water Pollution Biology. United States Departement of Interior Federal Water Pollution Control Administration, Division of Technical Support. 293 p.
- Maharsyah, T., M. Lutfi, dan W.A. Nugroho. 2013. Efektivitas penambahan plant growth promoting bacteria (*Azospirillum* sp.) dalam meningkatkan pertumbuhan mikroalga (*Chlorella* sp.) pada media limbah cair tahu setelah proses *anaerob*. *Jurnal Keteknikaan Pertanian Tropis dan Biosistem*. **1**(3): 258-264.
- Manendar, R. 2010. *Pengolahan limbah cair rumen pemotongan hewan (RPH) dengan metode fotokatalitik TiO₂ : Pengaruh waktu kontak terhadap kualitas BOD₅ COD dan pH efluen*. TESIS. Institut Pertanian Bogor: Bogor. 41 hlm.
- Marjuki dan R. D. Wahyuni. 2012. *Kaji-tindakan pengolahan isi rumen limbah rumah potong sapi sebagai pakan ternak sumber protein melalui proses fortifikasi dan fermentasi*. SKRIPSI. Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya: Malang. 1 – 9.
- Masithah, E. D., N. Ariesma dan Y. Cahyoko. 2011. Pengaruh pemberian bakteri *Bacillus pumilus* pada rumen sapi sebagai pupuk terhadap pertumbuhan *Dunaliella salina*. *Jurnal Kelautan*. **4**(1): 82-89.
- _____, E. D., N. Choiriyah dan Prayogo. 2011 Pemanfaatan isi rumen sapi yang difermentasikan dengan bakteri *Bacillus pumilus* terhadap kandungan klorofil pada kultur *Dunaliella salina*. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. **3**(1): 97-102..
- Merin, D.D. and S. Prakash. 2012. Preliminary studies on biopolymers, phytochemicals and antimicrobials extracted from selected marine microalgae. *Blue Biotechnology Journal*. **1**(2): 245-263.
- Mulyanto, A. 2010. Mikroalga (*Chlorella* sp.) sebagai agensia penambat gas karbon dioksida. *Jurnal Hidrosfir Indonesia*. **5**(2) : 13-23.
- Nontji, A. 2008. Plankton Laut. LIPI Press. Jakarta. 331 hlm.
- Nuswantara, L. K., M. Soejono., R. Utomo., B. P. Widyobroto, dan H. Hartadi. 2006. Parameter fermentasi rumen pada sapi Peranakan *Friesian*

Holstein yang diberi pakan basal jerami padi dengan suplementasi sumber nitrogen dan energi berbeda. *Jurnal Pengembangan Peternakan Tropis*. **31**: 268-275.

Ogimoto, K and Imai. 1980. Atlas of Rumen Microbiology. Japan Scientific Press. Tokyo. 231 p.

Oktaviani, D., Adisyahputra., N. Amelia. 2017. Pengaruh kadar nitrat terhadap pertumbuhan dan kadar lipid mikroalga *Melastira* sp. sebagai tahap awal reproduksi biofuel. *Jurnal Risenologi KPM UNJ*. **2**(1): 13 hlm.

Ompi, M. 2016. Larva Avertebrata Dasar laut: Ekologi dan Tingkah Laku Larva. Deepublish. Yogyakarta. 132 hlm.

Pal, S. W., N. K. Sight and K. Azzam. 2013. Evaluation of relationship between light intensity (lux) and growth of *Chaetoceros muelleri*. *Oceanography*. **1**(3): 1- 4.

Panggabean, M.T. 2012. Fatty acid synthesis by Indonesian marine diatom, *Chaetoceros gracilis*. *Hayati Journal of Biosciences*. **16** (4): 151-156.

Patty, S. I., H. Arfah dan M. S. Abdul. 2015. Zat hara (fosfat, nitrat), oksigen terlarut dan pH kaitannya dengan kesuburan di perairan Jikumerasa, Pulau Buru. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*. **1**(1): 43 – 50.

Prasetyaningtyas, T., B. Priyono, dan T.A. Pribadi. 2012. Keanekaragaman plankton di perairan tambak ikan bandeng di Tapak Tugurejo, Semarang. *Unnes Journal of Life Science*. **1**(1): 54-61.

Prihantini, N.B., B. Putri, dan R. Yuniati. 2005. Pertumbuhan *Chlorella* spp dalam medium ekstrak taug (MET) dengan variasi pH awal. *Makara Sains*. **9**(1): 1-6.

_____, N.B., D. Damayanti, dan R. Yuniati. 2007. Pengaruh konsentrasi medium ekstrak taug (MET) terhadap pertumbuhan *Scenedesmus* isolat Subang. *Makara Sains*. **11**(1): 1-9.

Putri, C.L.O., Insafitri, dan I.W. Abida. 2009. Pengaruh pemberian *FeCl3* terhadap pertumbuhan *Chaetoceros calcitrans*. *Jurnal Kelautan*. **2**(1): 73-80.

Raghavan, G., C.K. Haridevi and C.P. Gopinathan. Growth and proximate composition of the *Chaetoceros calcitrans* f. *pumilus* under different temperature, salinity and carbon dioxide levels. *Aquaculture Research*. **39**: 1053-1058.

Rasyid, S. B., A. M. Liwa, L. A. Rotib, Z. Zakaria dan W. M. Waskito, 1981. *Pemanfaatan isi rumen sapi sebagai substitusi sebagian ransum basal terhadap performan ayam broiler*. SKRIPSI. Universitas Hasanuddin: Ujung Pandang. 10-24.

Resmi, A. B., N. K. G. Wiryawan., M. T. Suhartono dan Y. Widyastuti. 2011. Karakteristik endapan cairan rumen sapi asal rumah potong hewan

sebagai *Feed Supplement*. *Jurnal Ilmiah Ilmu-ilmu Peternakan*. **14**(1): 1 – 13.

Richmond, A. 1986. Cell response to environmental factors. Handbook of Microalgal Mass Culture. CRC Press. *J. Phycol.* **26**: 393 – 399 pp.

Rizki, A. M., W. Oktiawan. 2015. Pengolahan limbah rumen pemotongan hewan (RPH) menjadi pupuk cair yang diperkaya dengan magnesium (Mg) yang berasal dari limbah garam (*Bittern*). *Jurnal Teknik Lingkungan*. **4**(3): 1 – 7.

Safitri, A., H. Fitrihidayati, dan Wisanti. 2013. Pemanfaatan kompos daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*) dan daun angkana (*Pterocarpus indicus*) sebagai media kultur pertumbuhan populasi *Chaetoceros calcitrans*. *Lentera Bio*. **2**(3): 211-216.

Sambu, A. H., A. Malik., A. Selvia. 2016. Optimasi pemberian *Skeletonema costatum* yang dipupuk cairan rumen dengan kepadatan yang berbeda terhadap sintasan larva udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*) stadia zoes sampai Mysis. *Jurnal Unismuh*. **5**(1): 451 - 455

Santi, S. S. 2010. Kajian pemanfaatan limbah nilam untuk pupuk cair organik dengan proses fermentasi. *Jurnal Teknik Kimia*. **4**(2): 335 – 340.

Sastrosupadi, A. 2000. Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian Edisi Revisi. Kanisius. Yogyakarta. 276 hlm.

Sciandra A dan Gostan J. 1997. Growth-compensating in continous cultures of *Dunaliella tertiolecta* limited simultaneously by light and nitrate. *Limnol Oceanogr*. **42**(6): 1325-1339.

Singh, P., S.K. Gupta, A. Guldhe, I. Rawat, and F. Bux. 2015. Handbook of Marine Microalgae Biotec hnology Advance In Kim, S. (Ed). Elsevier. Oxford, UK. 586 p.

Soewardi, K., N. Pratiwi dan Messenreng. 2005. Komposisi dan kelimpahan fitoplankton *chrysophyta* (*Phaeodactylum* sp., *Chaetoceros* sp., dan *Pavlova* sp.) pada berbagai tingkat kandungan unsur hara nitrogen, fosfor dan silikat. *Jurnal Ilmu – ilmu Perairan dan Perikanan Indonesia*. **12**(2): 153-160.

Suantika, G., P. Adityawati, D.I. Astuti dan Y. Sofyan. 2009. Pengaruh kepadatan awal inokulum terhadap kualitas kultur *Chaetoceros gracilis* (Schütt) pada sistem *batch*. *Jurnal Matematika dan Sains*. **14**(1): 1-8.

Suminto. 2005. Budidaya Pakan Alami Mikroalgae dan Rotifer. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan UNDIP: Semarang. 54 – 55.

_____. 2009. Penggunaan jenis media kultur teknis terhadap produksi dan kandungan nutrisi sel *Spirulina platensis*. *Jurnal Saintek Perikanan*. **4**(2): 53-61.

Susanti, T. I., M. Lutfi dan W. A. Nugroho. 2013. Pengaruh penambahan *plant growth promoting bacteria* (*Azospirillum* sp.) terhadap laju pertumbuhan

- mikroalga (*Chlorella* sp.) pada media limbah cair tahu sintetis. *Jurnal Keteknikan Pertanian Tropis dan Biosistem*. **1**(3): 239-248.
- Sutanto, A. 2011. Degradasi bahan organik limbah cair nanas oleh bakteri indigen. *El-Hayah*. **1**(4): 151-156.
- Sutomo. 2005. Kultur tiga jenis mikroalga (*Tetraselmis* sp., *Chlorella* sp. dan *Chaetoceros gracilis*) dan pengaruh kepadatan awal terhadap pertumbuhan *C. gracilis* di laboratorium. *Oseanologi dan Limnologi*. **37**: 43-58.
- Takano, H. (1968). On the diatom *Chaetoceros calcitrans* (Paulsen) emend. and its dwarf form *pumilus* forma nov. *Bulletin Tokai Regional Fisheries Research Laboratory*. **55**: 1-7.
- Tantanasarit, C., S. Babel, A.J. Englande, and S. Meksumpun. 2013. Influence of size and density on filtration rate modeling and nutrient uptake by green mussel (*Perna viridis*). *Marine Pollution Bulletin*. **68**: 38-45.
- Trikurti, I.K., A.A.M.D. Anggreni dan I.B.W. Gunam. 2016. Pengaruh jenis media terhadap konsentrasi biomassa dan kandungan protein mikroalga *Chaetoceros calcitrans*. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. **4**(2): 13-22.
- Widianingsih, W., R. Hartati, H. Endrawati, dan M. Hilal. 2012. Kajian kadar total lipid dan kepadatan *Nitzschia* sp. yang dikultur dengan salinitas yang berbeda. *METANA*. **7**(1): 29-37.
- Yusufa, M.H., M.C. Padaga, dan D.A. Octavianie. 2014. *Identifikasi dan studi aktivitas protease Bacillus sp. asal limbah cair rumah potong ayam tradisional sebagai kandidat penghasil biodeterjen*. SKRIPSI. Program Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya: Malang. 99 hlm.

